

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

**par
YVES DUMOULIN**

Faculté de pharmacie, Université de Montréal

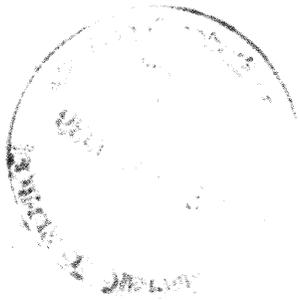
**Thèse présentée à la Faculté des études supérieures en vue de
l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph. D.) en Sciences
Pharmaceutiques**

Septembre 1998

©Yves Dumoulin, septembre 1998



QV
705
U58
1999
v.003



Identification du jury

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

« L'amylose réticulé, un nouvel excipient pharmaceutique »

présentée par :

Yves Dumoulin

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Jean Norbert McMullen	Président du jury
Louis Cartilier	Directeur de recherche
Mircea Alexandru Mateescu	Codirecteur de recherche
Roch Thibert	Membre du jury
Juliana Juhasz	Examineur externe
Pierre André Lavoie	Représentant du doyen

Thèse acceptée le : 99 04 30

Sommaire

L'amylose réticulé (AR), obtenu suite à la réticulation de l'amidon à haute teneur en amylose par traitement à l'épichlorhydrine, a été introduit au début des années 1990 comme excipient pour la libération contrôlée de médicaments. Divers taux de réticulation de l'amylose peuvent être obtenus en variant le rapport épichlorhydrine / amylose. Les cinétiques de libération de médicaments à partir de comprimés d'AR, en fonction du taux de réticulation du polymère, de la force de compression et de la charge en principe actif ont été étudiés. L'analyse cinétique de la libération ainsi que l'absence d'une transition polymérique de l'état vitreux à caoutchouteux suggéraient l'implication d'un mécanisme de libération autre que la seule diffusion du principe actif. Une hypothèse d'un mécanisme de libération reposant sur la pénétration de l'eau dans le comprimé provoquant le remplacement des liens amylose-amylose par de nouveaux liens eau-amylose capables de freiner la pénétration de l'eau et la diffusion du principe actif avait été émise.

Ce travail constitue la suite logique du développement et de la caractérisation physico-chimique de l'AR utilisé comme excipient pour la préparation de formes à libération contrôlée de médicaments.

La libération de principes actifs peu solubles en milieu aqueux à partir d'une matrice d'AR peut parfois être trop lente et s'effectuer sur plusieurs jours. Pour ces médicaments, la vitesse de libération peut être accélérée en ajoutant une quantité déterminée d' α -amylase dans le mélange pulvérulent d'AR et de principe actif, avant d'effectuer la compression. Une augmentation du contenu en α -amylase dans les comprimés provoque une augmentation marquée de la vitesse de libération et une augmentation de la linéarité des profils de libération, alors que de fortes modifications de la concentration d' α -amylase dans le milieu de dissolution présentent moins d'effet. Pour des concentrations élevées d' α -amylase, l'hydrolyse enzymatique devient le processus prédominant du contrôle de la libération du principe actif. Les profils de libération témoignent de l'influence de deux mécanismes qui régissent le contrôle de libération: i) un gonflement du comprimé accompagné par une diffusion du principe actif et ii) une hydrolyse enzymatique provoquant une érosion du comprimé et une accélération du taux de libération.

En-dehors de ses aptitudes pour contrôler la libération de principes actifs, l'AR possède des propriétés liantes et peut aussi devenir un agent de désagrégation. La dureté augmente avec le degré de réticulation jusqu'à un maximum de dureté pour le degré AR-15. Une plus grande proportion d'AR ainsi qu'une augmentation de la force de compression ont pour conséquence d'augmenter la dureté et de diminuer la friabilité des comprimés. La présence de 0.2 % de stéarate de magnésium dans les comprimés contenant de l'AR ne semble pas avoir d'effet sur la dureté et la friabilité. Une étude comparative des propriétés liantes de l'amylose réticulé (AR-8) et de l'amylopectine réticulée à 8 % semble démontrer qu'une augmentation de la teneur en amylose conduit directement à une augmentation de la dureté des comprimés. Les

résultats des tests de désagrégation se sont révélés satisfaisants lorsque l'AR 15 est comparé à l'Avicel PH-102®. La vitesse d'absorption d'eau des comprimés augmente lorsque le taux de réticulation de l'amylose augmente suggérant que les propriétés de désagrégation de l'AR (taux de réticulation supérieur à 15 %) soient reliées à une pénétration rapide de l'eau dans les comprimés.

La caractérisation de l'AR par analyse d'image a permis de démontrer qu'un gel se forme à la surface des comprimés à base d'amylose réticulé en moins de 10 minutes suivant l'immersion des comprimés dans l'eau. La formation du réseau de gel de la surface vers le centre du comprimé s'effectue progressivement pendant plusieurs heures jusqu'à ce qu'un équilibre de gonflement soit atteint (environ 72 heures). Quelque soit le taux de réticulation, les spectres RMN des comprimés d'amylose réticulé s'apparentent au spectre Va de l'amidon. Suivant l'immersion dans l'eau des comprimés à base d'amylose ayant un faible taux de réticulation, on assiste à la naissance progressive d'un spectre décrivant la forme cristalline de type B de l'amylose caractérisée par la formation de doubles hélices. La gélification, la réticulation et le traitement de l'amidon à haute teneur en amylose modifient profondément l'organisation granulaire de l'amidon natif, comme en témoignent les profils de rayons X. Cette modification s'accroît avec l'augmentation du degré de réticulation suggérant que l'hélice simple de l'amylose subit une déformation tant et si bien que la structure devient complètement déformée pour des taux de réticulation très élevés. Les résultats obtenus en FT-IR sont en accord avec les résultats de diffraction de rayons X démontrant que pour les degrés faibles de réticulation, l'association intra- et inter-chaînes d'amylose est favorisée.

L'ensemble des études de caractérisation par gonflement, par analyse d'image, par diffraction de rayons X, par FT-IR et par RMN démontrent que la propriété d'excipient pour la libération contrôlée vient, vraisemblablement, de l'habileté de l'amylose de former des gels compacts qui ne s'érodent pas. La gélification s'effectue suite à l'immersion des comprimés dans l'eau et à la transformation de la partie amorphe de l'amylose en une structure thermodynamiquement plus stable constituée d'hélices d'amylose annelées et arrangées dans une superstructure de type B. La réticulation modérée de l'amidon à haute teneur en amylose implique aussi le greffage des molécules d'amylopectine au sein des longues sections de chaînes d'amylose permettant ainsi l'obtention d'un gel plus souple et élastique, tout en demeurant relativement résistant aux enzymes amylolytiques. L'augmentation excessive du taux de réticulation conduit à la déformation des hélices d'amylose, ce qui a comme conséquence l'inhibition de la réassociation de l'amylose se traduisant par l'augmentation des vitesses de libération des principes actifs.

Les temps de libération sont maximaux pour les produits ayant un taux de réticulation modéré ; dans ce cas, les forces de réassociation des chaînes d'amylose seraient parfaitement équilibrées par la souplesse et élasticité du gel résultant de la réticulation impliquant les chaînes d'amylose et d'amylopectine.

TABLE DES MATIÈRES

Identification du jury	ii
Sommaire	iii
Liste des tableaux	viii
Liste des figures	ix
Liste des sigles et des abréviations	xvi
Remerciements	xviii
Introduction	1
Chapitre 1.0. SYSTÈMES PERMETTANT LA LIBÉRATION CONTRÔLÉE DE MÉDICAMENT ADMINISTRÉ PAR VOIE ORALE	2
1.1. Rôle des excipients dans la formulation d'une forme orale.....	3
1.2. Libération contrôlée: Définition et terminologie.....	5
1.3. Avantages et désavantages des formes à libération contrôlée.....	8
1.4. Corrélacion <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i>	10
1.5. Description des systèmes polymériques pour l'administration orale de médicament.....	11
1.5.1. Diffusion et transfert de masse.....	11
1.5.2. Classification des systèmes de libération selon le mécanisme de transfert de masse.....	12
1.5.3. Analyse de la cinétique de libération d'un médicament.....	13
1.5.4. Systèmes contrôlés par la diffusion.....	14
1.5.4.1. <i>Systèmes réservoirs</i>	14
1.5.4.2. <i>Systèmes matriciels</i>	16
1.5.4.2.1. <i>Matrices hydrophiles</i>	17
1.5.4.2.2. <i>Matrices inertes</i>	21
1.5.4.2.3. <i>Matrices lipidiques</i>	22
1.5.5. Les systèmes à libération contrôlée par le solvant.....	23
1.5.5.1. <i>Pompes osmotiques</i>	23
1.5.5.2. <i>Polymères à gonflement limité</i>	25
1.5.6. Les systèmes à libération contrôlée chimiquement.....	29

1.5.7. Les systèmes à libération contrôlée magnétiquement.....	32
Chapitre 2.0. UTILISATION DE L'AMIDON ET DE SES DÉRIVÉS DANS L'INDUSTRIE.....	34
2.1. Le rôle de l'amidon dans l'industrie.....	35
2.2. La nature et la structure de l'amidon.....	37
2.3. Mécanisme de gélification de l'amidon.....	42
2.4. Modification chimique de l'amidon.....	44
2.4.1. Réticulation de l'amidon.....	45
2.4.2. Les propriétés de l'amidon réticulé.....	46
2.4.3. Les agents de réticulation.....	47
2.4.4. Réaction de l'amidon avec l'épichlorhydrine.....	48
2.5. Le rôle de l'amidon et de ses dérivés dans l'industrie pharmaceutique.....	50
Chapitre 3.0. PROPRIÉTÉS PARTICULIÈRES DE L'AMYLOSE.....	54
3.1. Le rôle de l'amylose dans la rétrogradation et la gélification de l'amidon.....	55
3.1.1. Phénomènes généraux liés à la gélification.....	55
3.1.2. Le rôle plastifiant de l'eau.....	60
3.1.3. Modèles moléculaires proposés pour l'amylose rétrogradé.....	64
3.1.4. Formation d'un gel d'amidon résistant aux enzymes amylolytiques.....	68
3.1.5. Complexation de l'amylose.....	69
3.1.5.1. <i>Complexation de l'amylose par les lipides.....</i>	<i>70</i>
3.1.5.2. <i>Complexation de l'amylose par les solvants organiques.....</i>	<i>71</i>
3.2. L'amylose réticulé.....	73
Chapitre 4.0. PRÉSENTATION DES OBJECTIFS.....	78

PRÉSENTATION DES MANUSCRITS

Chapitre 5.0. LIBÉRATION CONTRÔLÉE ENZYMATIQUEMENT À PARTIR DE COMPRIMÉS D'AMYLOSE RÉTICULÉ.....	80
5.1. Cross-linked polyhydroxylic material for enzymatically controlled drug release (<i>brevet EU no. 5,603,956, (1997)</i>)	81
5.2. Cross-linked amylose tablets containing α -amylase: an enzymatically-controlled drug release system (<i>J. Control. Rel., (1998)</i>)	92
Chapitre 6.0. UTILISATION DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ COMME AGENT LIANT ET DÉSINTÉGRANT.....	114
6.1. Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in tablets (<i>brevet EU no. 5,616,343, (1997)</i>)	115
6.2. Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in compressed tablets (<i>S.T.P. Pharma Sciences 4, (1994), p. 329-335</i>)	129
Chapitre 7.0. DÉVELOPPEMENTS RÉCENTS SUR L'UTILISATION DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ.....	137
Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances (<i>J. Control. Rel. 53, (1998), p. 225-234</i>)	138
Chapitre 8.0. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ	148
Cross-linked amylose as matrix for drug controlled release. X-ray and FT-IR structural analysis (<i>Carbohydr. Polym., (1998)</i>)	149
Chapitre 9.0. DISCUSSION GÉNÉRALE.....	159
Chapitre 10.0. CONCLUSION.....	181
Chapitre 11.0. BIBLIOGRAPHIE.....	185
Annexe 1: Résumé des étapes critiques du développement de l'amylose réticulé.....	204

Liste des tableaux

- Tableau 1.1: Terminologie des formes à libération contrôlée
- Tableau 1.2: Présentation des divers types de transport de médicaments en fonction de la valeur de l'exposant diffusionnel (n).
- Tableau 1.3 : Exemple de polymères solubles dans l'eau pouvant être utilisés dans la formulation de matrices hydrophiles [Dunn, 1991].
- Tableau 2.1: Température de gélatinisation en fonction de la source d'amidon et la teneur en amylose.
- Tableau 6.1.1 : Concentration of each ingredient in the tablets.
- Tableau 6.1.2 : Friability of tablets..
- Tableau 6.1.3 : Crushing-strength values of CLA-8, Cross-Linked Amylopectine-8 and Lactose 100 mesh.
- Tableau 6.2.1 : Proportions of ingredients.
- Tableau 6.2.2 : The effect of the compressional force and the nature and concentration of the binder on the crushing strength of tablets.
- Tableau 6.2.3 : The effect of compressional force and the nature and concentration of the binder on the friability of tablets.
- Tableau 6.2.4 : The effect of the compressional force on the disintegration time of tablets containing 20 % of a binder/disintegrant.
- Tableau 9.1.: Comparaison de la dureté des comprimés contenant soit 20 % d'amylose réticulé (AR-8), 20 % d'amylopectine réticulée-8 ou seulement du Lactose 100 mesh. Tous les comprimés ont été compressés à 8 tonnes/cm².
- Tableau 9.2.: Influence de l'incorporation d'un agent complexant sur les propriétés de libération.
- Tableau 9.3: Relation entre le taux des formes V* et B** obtenus par RMN du solide suite à l'hydratation de comprimés de Contramid® et la quantité d'épichlorhydrine introduite [tiré de Marchessault et al., 1998].

Liste des figures

- Figure 1.1: Représentation de la dissolution et de l'absorption d'une forme solide administrée oralement.
- Figure 1.2: Profil théorique du temps de résidence d'un médicament administré oralement à partir d'un comprimé conventionnel et d'un comprimé à libération contrôlée.
- Figure 1.3 : Représentation simplifiée de la libération d'un principe actif dispersé dans une matrice hydrophile.
- Figure 1.4 : Dégradation des polymères par clivage de la chaîne principale (a), des ponts de réticulation (b) et des chaînes latérales (c) [Park and al., 1993].
- Figure 1.5 : Profil théorique de libération d'un principe actif contrôlé par diffusion (a) et par érosion combinée à la diffusion (b).
- Figure 2.1: Représentation schématique de la structure d'une chaîne d'amylose.
- Figure 2.2: Représentation schématique de la structure de l'amylopectine.
- Figure 2.3: Représentation schématique d'un granule d'amidon [reproduit à partir de Lineback, 1986].
- Figure 2.4: Photographie au microscope optique (400x) en contraste de phase et en lumière polarisée d'une solution aqueuse d'amidon à 1,5 %.
- Figure 2.5: Reproduction du spectre RMN ^{13}C CP/MAS [Gidley et al., 1990] pour (a) l'amidon de maïs amorphe préparé par prégélatinisation suivi d'une précipitation à l'éthanol, (b) complexe type V de l'amylose avec le palmitate de sodium, (c) la forme cristalline de type A de l'amylose, et (d) la forme cristalline de type B de l'amylose.
- Figure 2.6: Photographie au microscope optique (400x) en contraste de phase et en lumière polarisée d'un amidon à haute teneur en amylose (Hylon VII) suite à un traitement à l'hydroxyde de sodium (0,45 N) à 50 °C.
- Figure 2.7: Schématisation de la gélatinisation d'un grain d'amidon par traitement thermique.
- Figure 2.8 : Schématisation d'une réaction secondaire de l'épichlorhydrine et l'amidon : formation d'un amidon glycérique monoether.
- Figure 2.9: Schématisation de la réaction de l'épichlorhydrine et l'amidon en milieu alcalin.

- Figure 2.10: Schématisation d'une réaction secondaire de l'épichlorhydrine avec un amidon glycérique monoether.
- Figure 3.1: Représentation schématique de la formation et association des doubles hélices: (a) formation de doubles hélices et élongation de la chaîne, (b) association latérale des zones sous forme d'hélices [Morris, 1990].
- Figure 3.2: Dépendance des vitesses de nucléation, de propagation et de la vitesse de cristallisation globale d'un système polymérique partiellement cristallin vis-à-vis de la température [Eerlingen et al., 1993].
- Figure 3.3: Représentation schématique de la transformation des systèmes à base d'amidon, révélée par DSC et diffraction de rayons X. Tous les changements d'état sont sous la dépendance du Tg et donc de la température d'entreposage et de l'importance du rôle de l'eau comme plastifiant dans la phase métastable amorphe ou partiellement cristalline [adaptation d'après Biliaderis, 1991 (a)].
- Figure 3.4: Thermogramme classique obtenu pour une suspension d'amidon de riz (50 % p/p) contenant 22 % d'amylose. La vitesse de chauffage est de 10 °C /min. [Biliaderis, 1991 (b)].
- Figure 3.5: Thermogrammes de l'amidon de riz cireux contenant différentes fractions volumiques d'eau [Biliaderis, 1992].
- Figure 3.6: Représentation d'une double hélice formée par l'association de deux brins d'amylose [Imberty et al., 1988 (a)]. En pointillé, sont représentées les liaisons hydrogène.
- Figure 3.7: Représentation moléculaire des structures cristallines selon un plan perpendiculaire à l'axe des doubles hélices des polymorphes A (a) et B (b) [Imberty et al., 1988 (a) et 1988 (b)].
- Figure 3.8: Spectre RMN du solide ^{13}C CP/MAS d'amidon hydraté sous une humidité relative de 100 %. (a) amylose de type A et (a) amylose de type B [Veregin et al., 1986].
- Figure 3.9: Effet de différentes concentrations de L- α -lysophosphatidylcholine sur la température de transition exothermique obtenue lors du refroidissement de 180 °C à 4 °C [Sievert and Wursch, 1993].
- Figure 3.10: Représentation schématique de la structure hypothétique d'une section de jonction covalente de l'amylose réticulé.
- Figure 5.1.1 : Illustrates the release profiles of theophylline in a tablet prepared in accordance with the present invention.

- Figure 5.1.2 : Illustrates the release profiles of 4-acetaminophenol (acetaminophen) in a tablet prepared in accordance with the present invention.
- Figure 5.1.3 : Illustrates the release profiles of acetanilide in a tablet prepared in accordance with the present invention.
- Figure 5.1.4 : Illustrates the total release time of several drug depending on the contents of α -amylase in the tablet.
- Figure 5.1.5 : Illustrates the influence of the activity of α -amylase in the dissolution media on the release profiles of acetanilide.
- Figure 5.2.1 : Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of acetanilide and 0 (■), 1 (o), 2 (●), 3 (□), 5 mg (▲) of α -amylase (5 EU/mg) or 15 mg (Δ) of bovine serum albumin/tablet. Dissolution experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C.
- Figure 5.2.2. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of theophylline and 0 (■), 1 (o), 2 (●), 3 (□), 5 mg (▲) of α -amylase (5 EU/mg) or 15 mg (Δ) of bovine serum albumin/tablet. Dissolution experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C.
- Figure 5.2.3. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of acetaminophen and 0 (■), 1 (o), 2 (●), 3 (□), 5 mg (▲) of α -amylase (5 EU/mg) or 15 mg (Δ) of bovine serum albumin/tablet. Dissolution experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C.
- Figure 5.2.4. Total release time of 100 mg of theophylline (o), acetaminophen (■) and acetanilide (●) from CLA-6 tablets (500 mg) as a function of α -amylase tablet content.
- Figure 5.2.5. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of acetanilide as a function of α -amylase activities in the dissolution medium. The experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C, containing 0 (o), 300 (■), 1000†(●), 2000 (□), 3000 (▲) and 6000 EU/L (Δ).
- Figure 6.1.1 : Illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 5 % of cross-linked amylose.
- Figure 6.1.2 : Illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 15 % of cross-linked amylose.

- Figure 6.1.3 : Illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 20 % of cross-linked amylose.
- Figure 6.1.4 : Illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 25 % of cross-linked amylose.
- Figure 6.1.5 : Illustrates the hardness versus the cross-linking degree when tablets are compressed at 8 tons/cm².
- Figure 6.1.6 : Illustrates the hardness versus the compression strength for tablets containing 20 % by weight of Avicel or CLA-15 as the binder.
- Figure 6.1.7 : Illustrates the hardness versus the compression strength for tablets containing 25 % by weight of Avicel or CLA-15 as the binder.
- Figure 6.2.1 : Water uptake apparatus.
- Figure 6.2.2 : Crushing strength for tablets containing 5 % of cross-linked amylose powder of various cross-linking degree (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.
- Figure 6.2.3 : Crushing strength for tablets containing 15 % of cross-linked amylose powder of various cross-linking degree (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.
- Figure 6.2.4 : Crushing strength for tablets containing 20 % of cross-linked amylose powder of various cross-linking degree (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.
- Figure 6.2.5 : Crushing strength for tablets containing 25 % of cross-linked amylose powder of various cross-linking degree (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.
- Figure 6.2.6 : Crushing strength for tablets with various percentages of cross-linked amylose compressed at 8 tons as a function of cross-linking degree.

Figure 6.2.7 : Crushing strength of tablets containing 20 % of CLA 15, 20 % of CLA 15 (granulometric fraction below 50 μm), 20 % of Avicel PH 102[®], or α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate, as a function of different compressional forces. Error bars represent standard deviation.

Figure 6.2.8 : Crushing strength of tablets containing 25 % of CLA 15, 20 % of CLA 15 (granulometric fraction below 50 μm), 25 % of Avicel PH 102[®], or α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate, as a function of different compressional forces. Error bars represent standard deviation.

Figure 6.2.9 : Friability of tablets containing 20 % of cross-linked amylose (CLA, 6, 11, 15, 30), or 20 % of Avicel PH 102[®] as a function of compressional force.

Figure 6.2.10 : Friability of tablets containing 25 % of cross-linked amylose (CLA, 6, 11, 15, 30), or 25 % of Avicel PH 102[®] as a function of compressional force.

Figure 6.2.11 : The influence of the cross-linking degree on the water uptake by cross-linked amylose tablets. Error bars represent the standard deviation.

Figure 7.1.1 : Axial dimensional change of high amylose cross-linked starch tablets in water at 37 °C.

Figure 7.1.2 : Radial dimensional change of high amylose cross-linked starch tablets in water at 37 °C.

Figure 7.1.3 : Gel-layer thickness dimensional change of high amylose cross-linked starch tablets in water at 37 °C.

Figure 7.1.4 : Evolution of gel front to tablet center distance in the axial direction in high amylose cross-linked starch tablets in water at 37 °C.

Figure 7.1.5 : Evolution of gel front to tablet center distance in the radial direction in high amylose cross-linked starch tablets placed in water at 37 °C.

Figure 7.1.6 : Plot of the grey levels intensity along the radial direction in the first 60 min of high amylose cross-linked starch tablets placed in water at 37 °C.

Figure 7.1.7 : Plot of the grey levels intensity along the radial direction over 72 h in high amylose cross-linked starch tablets placed in water at 37 °C.

- Figure 7.1.8 : ^{13}C CP/MAS spectra of high amylose cross-linked starches of varying cross-linking degrees (A = 3.0 %, B = 4.0 %, C = 6 %) in the dry state.
- Figure 7.1.9 : ^{13}C CP/MAS spectra of high amylose cross-linked starches with varying cross-linking degrees (A = 3.0 %, B = 4.0 %) after 72 h at 100 % relative humidity.
- Figure 7.1.10 : Schematic representation of a model for the structural arrangement of high amylose cross-linked starch with a low cross-linking degree in the dry and hydrated states.
- Figure 7.1.11 : Plasma concentration versus time profiles of pseudoephedrine in 6 fasted healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of Efidac and a cross-linked amylose tablet.
- Figure 7.1.12 : Plasma concentration versus time profiles of pseudoephedrine in 6 fasted and fed healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of a high amylose cross-linked starch tablet.
- Figure 7.1.13 : Plasma concentration versus time profiles of diclofenac in 12 fed healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of Voltaren SR 100 and a generic version prepared using high amylose cross-linked starch.
- Figure 7.1.14 : Plasma concentration versus time profiles of diclofenac in 12 fasted healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of Voltaren SR 100 and an original high amylose cross-linked starch tablet.
- Figure 8.1.1 : The influence of cross-linking degree of CLA tablets on the theophylline release time (tablets of 500 mg containing 50 mg of drug).
- Figure 8.1.2 : X-Ray diffraction pattern for native and CL-Amylose of various cross-linking degrees in powder (P) and tablet (T) forms. Insert: CMCLA-20 (protonated) and CMCLA-20 sodium salt.
- Figure 8.1.3 : Typical FT-IR spectrum of CLA-6 with the assignment of the main bands.
- Figure 8.1.4 : Relative intensities of FT-IR water deformation vibration mode ($A_{1646\text{ cm}^{-1}}/A_{2928\text{ cm}^{-1}}$) as a function of cross-linking degree. Before tableting in KBr the powders were dried at 105 °C for 24 h.

Figure 8.1.5 : Water evaporation kinetics: water percentage lost (a) and evaporation (b) at half-time drying of CLA powders (at 50 °C in oven) and the evaporation rate (c), as a function of the cross-linking degree. Prior to drying samples were exposed for 24 h at 50 °C in a closed vessel saturated in water vapors.

Schéma 8.1.I: Hypothetical representation of the covalent and H-bonding stabilization of CLA for low-moderate (a) and high (b) cross-linking degree. This simplified model of a limited network section shows that at hydration, only low cld will favor enough chains mobility to allow their stabilization by H-bonding.

Figure 9.1.: Représentation schématique du procédé de fabrication de l'amylose réticulé (1992).

Figure 9.2: Spectres RMN ^{13}C CP/MAS des comprimés sans principe actif à base de Contramid (a) sec et (b) à l'état hydraté.

Figure 9.3: Comparaison des spectres RMN ^{13}C CP/MAS obtenus à partir des poudres d'amylose réticulé complexé avec 5 % de Myvaplex (a), 5 % de PEG 8000 (b) et 5 % d'éthanol (c).

Figure 9.4: Relation entre la température de la solution d'amylose réticulé à laquelle l'éthanol est ajouté et les temps de dissolution correspondants à la libération de 90 % du contenu initial d'acétaminophène.

Figure 9.5: Effet de la quantité d'épichlorhydrine introduite pour effectuer le pontage de l'amidon à haute teneur en amylose sur le taux de complexation par l'iode. Les taux de complexation des produits réticulés ont été normalisés en considérant que le taux de complexation du Hylon VII gélatinisé et non réticulé est de 100 % [tiré de Marchessault et al., 1998].

Figure 9.6: Représentation schématique du réseau gélifié au niveau moléculaire suivant l'hydratation d'un comprimé d'amylose réticulé. La supergélitation (association de plusieurs doubles hélices formant une cellule de type A ou B) n'est pas présentée pour ne pas surcharger cette figure.

Liste des sigles et des Abréviations

- Amylopectine réticulée-8: Amylopectine réticulée en utilisant 8 g d'épichlorhydrine par 100 d'amylopectine
- AR-0: Amylose gélatinisé, non réticulé et déshydraté par traitement à l'acétone
- AR-8: Amidon à haute teneur en amylose, réticulé à l'épichlorhydrine (le nombre indique la quantité d'épichlorhydrine utilisée pour réticuler 100 g d'amidon à haute teneur en amylose).
- AVEBE: Compagnie européenne fabricant d'amidon
- Avicel: Cellulose microcristalline
- BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication
- cGMP : « *Current Good Manufacturing Practice* »
- CLA: Amidon à haute teneur en amylose réticulé
- cld : Degré de réticulation
- C_{max}: Concentration sanguine maximale en principe actif
- CM-CLA-20 : carboxyméthyl-CLA-20
- CP/MAS : « *Cross-polarization / Magic-angle spinning* »
- CRDA: Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments
- DNS : Acide 3,5-dinitrosalicylique
- DP: Degré de polymérisation
- DSC: « *Differential scanning calorimetry* » - Calorimétrie différentielle à balayage
- DTGS : Détecteur au sulfate de triglycérine deutéré
- ECDR: « *Enzymatically Controlled Drug Release* »
- EU : Unité enzymatique. Une unité enzymatique est définie comme étant la quantité d'enzyme nécessaire pour hydrolyser des liens α -glucosidiques et produire 1 μ mole de sucre réducteur /min.
- FDA: « *Food and Drug Administration* »

FT-IR: Spectrométrie d'infra rouge en transformée de Fourier

GRAS: « *Generally Recognized As Safe* »

HPMC: Hydroxypropylméthylcellulose

HR: Humidité relative

Hylon VII: Amidon à haute teneur en amylose (environ 70%).

IT: Indice thérapeutique

LPC: L- α -lysophosphatidylcholine

Myvaplex®: Glycéryl monostéarate

PEG : Polyéthylène glycol

r/min : Rotations par minute

RMN ^{13}C : Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire spécifique au carbone 13

RS: Amylose résistant aux enzymes amylolytiques

Sel d'Epsom: Sulfate de magnésium (MgSO_4)

SR : « *Sustained release* »

STMP: Trimétaphosphate de sodium

T/cm²: Tonne métrique par centimètre carré

Tg: Température de transition vitreuse

TGI: Tractus gastro intestinal

T_m: Température de fusion

T_{max}: Temps nécessaire à l'obtention de C_{max} après l'administration d'un médicament

Tween: Polyoxyéthylène sorbitane monolaurate

Remerciements

« Pour qu'un rêve puisse devenir une réalité, il faut se donner à chaque jour et y croire fermement »

Je voudrais exprimer mes plus vifs remerciements à tous ceux qui ont cru à l'aboutissement du projet de développement et à la transposition d'échelle de la fabrication de l'amylose réticulé. À présent, l'amylose réticulé est devenu une réalité industrielle et bientôt, j'espère, il deviendra une réalité et une réussite commerciale.

Je voudrais remercier plus particulièrement le Dr. Louis Cartilier (directeur de thèse), le Dr. Mircea Alexandru Mateescu (codirecteur de thèse) et M. Marcel Dubois (Président de Rougier) pour avoir cru au projet dès le début, pour avoir eu confiance en moi et de m'avoir permis de jouer un rôle déterminant dans ce projet. Je suis également très reconnaissant envers M. François Carrière (responsable du projet, représentant de Rougier), Mme Pompilia Ispas Szabo, Mme Kathleen Hains, M. André Ingénito ainsi que Mme Line Migneault pour leur appui professionnel et leur support technique sans qui le projet n'aurait pu progresser. Je remercie également Mme Pascale Clément pour son aide précieuse, le Dr Robert H. Marchessault pour les discussions enrichissantes et ses conseils judicieux ainsi que Mme Rita Godin et M. Sylvain Dumoulin pour leur aide lors de la révision de ce document.

Je remercie de tout coeur mon épouse Manon Bigué (ma femme depuis le 31 mai 1997) pour son support et toute sa compréhension, de même que pour avoir donné naissance à notre garçon Jonathan à l'automne 1995 et à notre petite fille Valérie à l'automne 1993, au moment même où la transposition d'échelle débutait au CRDA (Centre de Recherche et de Développement sur les Aliments). Les encouragements et le support de mes parents et de ma soeur ont été grandement appréciés.

Je suis très reconnaissant envers le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et Génie du Canada (CRSNG), le Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide

à la Recherche (FCAR), la Faculté des Études Supérieures (F.E.S) et la Faculté de pharmacie pour l'aide financière qu'ils m'ont accordée.

Finalement, je remercie la compagnie Pharmaceutique Rougier pour le soutien financier au projet et pour m'avoir permis de siéger au Comité Scientifique chargé de l'évaluation et de la direction du développement technologique et de la transposition d'échelle de la fabrication de l'amylose réticulé.

Introduction

Le développement des technologies à libération contrôlée au sein des sciences biopharmaceutiques connaît un essor spectaculaire. L'administration d'un médicament à partir d'une forme conventionnelle peut conduire à l'obtention de fluctuations de la concentration systémique du médicament (profil en « dents de scie » ou « pics et vallées ») [Chien, 1982]. Il arrive que des effets indésirables soient associés à la concentration momentanément élevée de principe actif [Ventouras et Buri, 1976]. L'administration d'un principe actif à partir d'un système à libération contrôlée permet alors de réduire la fréquence d'administration et de maintenir une concentration de médicament plus constante, minimisant ainsi l'apparition d'effets indésirables [Sinko and Kohn, 1993].

Il faut d'autre part, mentionner le besoin de l'industrie pharmaceutique de compenser la décroissance du nombre de nouveaux médicaments disponibles pour le commerce et approuvés par la FDA (Food and Drug Administration). De plus, le coût très élevé associé au développement des nouveaux médicaments ainsi que l'expiration de la protection des brevets des médicaments déjà existants conduisent inévitablement à la réduction des revenus de plusieurs compagnies pharmaceutiques. Le développement de nouvelles méthodes de libération de médicaments améliorant l'efficacité des médicaments existants permet non seulement de prolonger leur période de protection, mais aussi de simplifier le développement et de réduire les coûts attribuables à la multitude de tests nécessaires pour obtenir l'approbation de la FDA [Chess, 1998; Hsieh, 1988; Chien, 1982].

Il ne faut donc pas se surprendre de l'intérêt croissant dont témoigne le monde pharmaceutique pour le développement de systèmes capables de libérer une substance active de façon constante et continue. Les propriétés intéressantes de l'amylose réticulé (Contramid®), comme nouvel excipient pour la libération contrôlée de médicaments, ont suscité la curiosité et un intérêt marqué de la part des compagnies pharmaceutiques nationales et multinationales.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

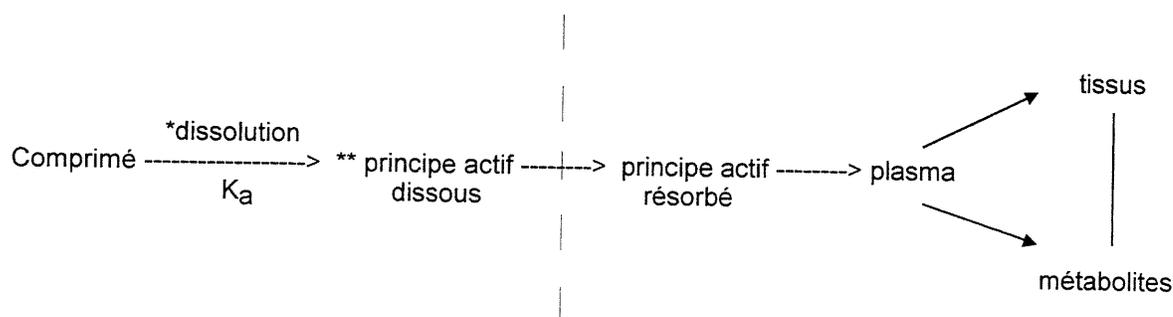
Chapitre 1.0.: SYSTÈMES PERMETTANT LA LIBÉRATION CONTRÔLÉE DE MÉDICAMENT ADMINISTRÉ PAR VOIE ORALE.

1.1. Rôle des excipients dans la formulation d'une forme orale

Parmi les nombreuses voies d'administration de médicaments, il est très important de sélectionner la meilleure voie en se basant principalement sur le lieu d'absorption et par conséquent, de choisir la forme médicamenteuse la plus appropriée [Ansel et al., 1990]. La vitesse d'absorption de l'agent thérapeutique dépend de la forme et de la voie d'administration. Il est de règle qu'un composé rapidement absorbé manifeste son effet promptement, mais par contre, cette action peut être de courte durée. En conséquence, de tels médicaments doivent être administrés à des intervalles plus rapprochés si on désire maintenir l'effet thérapeutique. Cela confère à l'horaire d'administration une importance particulière et un trop grand écart entre les doses peut en diminuer l'efficacité de façon significative.

Parmi la multitude de voies d'administration possibles, l'administration perorale de médicaments est la plus fréquemment utilisée [Banker and Anderson, 1986]. Bien que certaines médications soient administrées par voie orale dans le but de se dissoudre et d'être absorbées au niveau de l'épithélium buccal, la majorité des médicaments doivent être avalés. L'administration perorale est considérée comme la plus naturelle, la plus simple et la plus sécuritaire. Parmi les désavantages rencontrés lors de l'administration perorale de médicaments, on peut retrouver: une réponse plus lente, la possibilité d'avoir une absorption irrégulière due, par exemple, à la présence de nourriture dans le tractus gastro-intestinal, une destruction du médicament causée par l'acidité de l'estomac et/ou par les enzymes retrouvés dans le tractus gastro-intestinal.

Durant les dernières décennies, les chercheurs se sont aperçus que la dose effective d'un médicament ne correspondait pas nécessairement à la dose administrée. En effet, l'administration orale d'une même quantité de principe actif à partir de deux formes galéniques différentes, peut mener à l'obtention de paramètres pharmacocinétiques complètement différents (C_{max} , T_{max}) [Buri et Doelker, 1990]. À la lumière de ces constatations, on peut tenter de représenter le scénario de la dissolution et de l'absorption d'une forme solide administrée oralement (Figure 1.1).



- * Le terme dissolution est employé ici dans un sens très large et peut inclure d'autres mécanismes de libération comme la désintégration, le gonflement, l'hydrolyse chimique ou enzymatique, etc.
- ** La dissolution du principe actif peut s'effectuer après ou en même temps que la dissolution du comprimé.

Figure 1.1: Représentation de la dissolution et de l'absorption d'une forme solide administrée oralement.

En plus du principe actif, une forme posologique contient une certaine quantité d'ingrédients inertes (excipients) permettant l'administration du médicament. Parmi les excipients les plus communément utilisés, on retrouve : les agents diluants, liants, d'enrobages, désintégrants, de glissement, tensioactifs, de conservation, stabilisants, lubrifiants, colorants et des saveurs naturelles et artificielles [Sheth et al., 1980]. Les diluants sont utilisés dans la préparation des comprimés pour obtenir la taille et la consistance désirées. La fonction des enrobages est multiple et ceux-ci ont le rôle, entre autres, de protéger le comprimé contre l'acidité de l'estomac [Skelly, 1976]. Les agents de désagrégation sont utilisés pour générer une libération rapide du médicament. Les agents liants permettent d'augmenter la compressibilité et la dureté tout en diminuant la friabilité des comprimés. L'ajout d'un adjuvant d'écoulement permet d'améliorer l'écoulement des poudres et donc de faciliter la fabrication des comprimés.

1.2. Libération contrôlée: Définition et terminologie

Une classe particulière d'excipients, généralement composée de polymères, est utilisée dans la préparation de formes posologiques à libération contrôlée. Les systèmes polymériques voués à la modification du relargage du médicament et plus particulièrement au ralentissement de la libération sont communément appelés : systèmes à libération contrôlée, à libération soutenue, à libération prolongée, à libération lente, à action soutenue, à action prolongée, à action retard etc. [Krówczyński, 1987 (a)]. Il est toutefois important de nuancer les termes de libération contrôlée et de libération prolongée. Le premier signifie que la vitesse de libération du médicament est contrôlée par un mécanisme relié aux propriétés du réseau polymérique alors que le second signifie un simple ralentissement de la libération. La formulation d'une forme posologique peut modifier l'efficacité d'un médicament. La garantie d'une bonne efficacité thérapeutique dépend d'abord de la combinaison entre la qualité de la formulation (capacité à rendre le principe actif disponible et relativement indépendante des facteurs biologiques (pH, fenêtre d'absorption, motilité, présence de nourriture, etc.) et le pouvoir thérapeutique du principe actif.

Un système à libération contrôlée peut être défini comme une forme posologique dans laquelle on dénote la présence d'un ou d'une combinaison de mécanismes physico-chimiques (indépendants des conditions du TGI) qui retiennent et maintiennent la libération *in vivo* d'un médicament en fonction du temps avec une vitesse et une période de temps spécifiques [Urquhart, 1981]. Ce ne sont pas tous les principes actifs qui nécessitent une libération contrôlée. Il est possible que pour certains médicaments, le contrôle de la libération ne présente aucun avantage. C'est une combinaison des aspects pharmaceutiques, pharmacocinétiques et pharmacodynamiques qui détermine le type de formulation idéale [Chandrasekaran et al., 1981; Kydonieus, 1980].

La terminologie généralement utilisée pour caractériser les formes pharmaceutiques à libération contrôlée [Urquhart, 1981] est présentée dans le tableau 1.1. Il va de soi que dans la réalité, les mécanismes de libération ne sont pas

toujours parfaitement connus et que les formes à libération contrôlée ne démontrent pas toujours une bonne corrélation *in vitro* - *in vivo*.

Tableau 1.1: Terminologie des formes à libération contrôlée

Libération contrôlée	Système de libération impliquant un mécanisme physico-chimique indépendant des conditions du TGI (pH, motilité, présence de nourriture, etc)
Taux de libération contrôlé	Si le taux de libération <i>in vivo</i> est corrélé au taux de libération <i>in vitro</i>
Taux de libération contrôlant l'absorption	Si le taux et la quantité de principe actif absorbé dans la circulation systémique sont directement dépendants du taux et de la quantité libérée de principe actif de la forme à taux de libération contrôlée
Taux de libération spécifique	Si les éléments précédents sont corrélés

Comme il a été souligné précédemment, la contribution de la forme galénique est représentée par la constante K_a (Figure 1.1). Si K_a est l'étape limitante dans le processus, c'est la forme galénique qui contrôle les paramètres pharmaceutiques (C_{max} , T_{max}) et l'ampleur de l'effet thérapeutique. Contrairement à la dissolution d'une forme à libération immédiate qui s'effectue généralement dans l'estomac à pH acide, la forme solide à libération prolongée doit effectuer un voyage à travers toutes les parties du système gastro-intestinal. Lors du développement d'une formulation à libération contrôlée, on doit donc tenir compte de facteurs biologiques plus spécifiques tels que : la modification du pH, de la surface d'absorption, du temps de résidence et de la viscosité et la composition des fluides biologiques [Buri et Doelker, 1990 ; Prescott, 1981]. Un de ces facteurs biologiques peut avoir un impact

sur le mécanisme physico-chimique contrôlant la libération du principe actif et par conséquent, être dépendant des conditions du TGI. L'absorption s'effectue au long du tractus gastro-intestinal et il en résulte un effet systémique. Le but de la technologie impliquée dans la réalisation de systèmes à libération lente et contrôlée est de produire des comprimés capables de générer une concentration plasmatique constante en médicament [Sinko and Kohn, 1993; Kydonieus, 1980]. La comparaison entre les comprimés à libération immédiate et les comprimés à libération contrôlée est schématisée à la Figure 1.2. Le seuil d'efficacité (concentration efficace) représente la concentration minimale de médicament au niveau sanguin pour obtenir un effet thérapeutique. Le seuil de toxicité (concentration toxique) représente la concentration en principe actif dans le sang pour laquelle le médicament peut devenir toxique. Les comprimés à libération contrôlée de médicaments évitent les problèmes de « pics et vallées » associés aux formes à libération immédiate. Cette marge de sécurité est le plus souvent mesurée à l'aide de l'indice thérapeutique ($IT = C_t/C_e$) [Bruck, 1983].

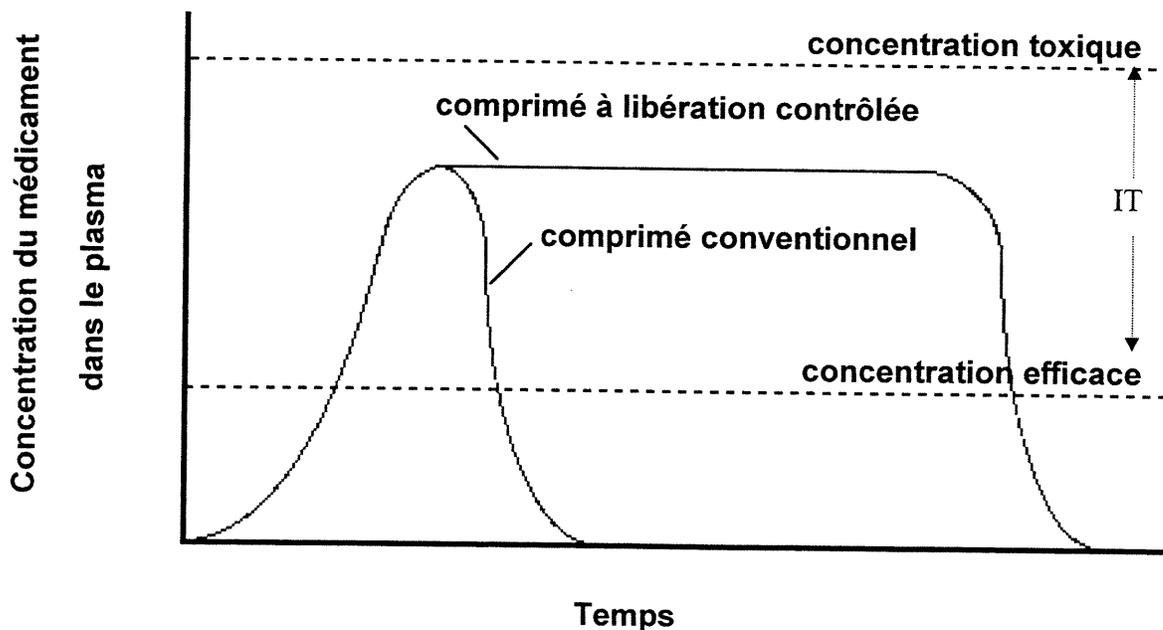


Figure 1.2: Profil théorique du temps de résidence d'un médicament administré oralement à partir d'un comprimé conventionnel et d'un comprimé à libération contrôlée.

Pour les principes actifs dont l'indice thérapeutique est relativement faible, la marge de sécurité devient étroite et les systèmes à libération contrôlée peuvent améliorer l'efficacité du traitement, sans risquer des problèmes de toxicité. Cependant, l'utilisation des systèmes à libération lente pour les médicaments possédant un indice thérapeutique très faible, n'est pas recommandée à cause des limitations techniques reliées à la précision du contrôle de la vitesse de libération.

1.3. Avantages et désavantages des formes orales à libération contrôlée

L'intensité de l'activité pharmacologique de plusieurs médicaments dépend de la concentration présente au niveau des récepteurs. Cette concentration est aussi reliée à la concentration de ce principe actif dans le sang qui est à son tour régie par sa libération, son absorption, sa distribution, sa métabolisation et son élimination. Dans le but d'atténuer ou de faire disparaître les effets secondaires reliés à un excès temporaire de principe actif, le développement des systèmes capables d'effectuer une libération lente, continue et constante de médicament est en pleine expansion. Grâce à ces systèmes, plusieurs principes actifs ayant jadis été mis à l'écart peuvent dorénavant être utilisés. Il faut cependant que le système de libération en développement rencontre les critères suivants [Urquhart, 1981]: il faut que la libération *in vivo* du médicament se fasse selon les critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques et que cette libération puisse être corrélée à une méthode *in vitro*, que le système en développement puisse assurer le maintien du taux plasmatique du principe actif dans la fenêtre thérapeutique avec une fluctuation interindividuelle minimale et qu'il permette d'augmenter la sélectivité de l'action médicamenteuse et de diminuer le nombre d'effets secondaires. Il faut aussi être en mesure de déterminer la durée d'action du principe actif lorsqu'il est administré par l'intermédiaire du système de libération choisi.

Lorsqu'ils sont préparés selon les règles de l'art, les différents systèmes à libération contrôlée de médicament possèdent plusieurs avantages par rapport aux formes à libération immédiate, sans nécessairement les réunir tous à la fois [Krówczyński, 1987 (a); Doelker, 1985 (a)] :

- Simplification de la posologie menant à une augmentation du confort.
- Diminution ou suppression des effets secondaires au niveau systémique par suite à une réduction de la concentration excessive observée lors de l'administration des formes immédiates à des intervalles rapprochés.
- Diminution du nombre d'administrations générant ainsi une couverture nocturne en médicament sans perturber le sommeil du patient.
- Diminution ou suppression de l'action irritante de certains principes actifs libérés en forte concentration sur les muqueuses du tractus gastro-intestinal.
- Protection du principe actif face à une éventuelle dégradation par des composants des fluides biologiques.

En contrepartie, l'utilisation de ces formes comporte certains désavantages [Krówczyński, 1987 (a) ; Doelker, 1985 (a)] :

- Difficulté à interrompre le traitement de façon instantanée dans le cas d'intoxication ou d'intolérance.
- La complexité technologique ne permet pas toujours d'assurer un contrôle rigoureux de la libération du médicament .
- Risque de surdosage dû à un mauvais usage, soit la mastication de la forme pharmaceutique ou son broyage par le patient.
- Adaptation difficile de la posologie aux différences pharmacocinétiques interindividuelles.
- Danger d'accumulation du principe actif si le temps de demi-vie est supérieur à six heures.
- Limitation technique liée au volume de la forme à préparer si la demi-vie du principe actif est inférieure à 4 heures et s'administre à forte dose.
- Efficacité mitigée si l'absorption du principe actif s'effectue dans un endroit spécifique le long du TGI.

1.4. Corrélation *in vitro* - *in vivo*

Comme il a été mentionné précédemment, la corrélation *in vitro* - *in vivo* d'un système à libération contrôlée perorale n'est pas toujours facile à démontrer. La vitesse d'entrée et la quantité de principe actif absorbée sont les deux principaux paramètres étudiés lors d'une étude de biodisponibilité. À l'aide de la méthode de convolution-déconvolution, il est possible d'isoler les diverses cinétiques et constantes d'entrée d'un principe actif ou encore, d'évaluer la combinaison de deux de ces processus [Aiache et Beyssac, 1990].

Il existe quatre niveaux de corrélation *in vitro* - *in vivo* :

Le niveau de corrélation A démontre une relation parfaite entre les dissolutions *in vitro* et *in vivo* et les profils de dissolution sont parfaitement superposables. Son principal avantage est que son développement s'effectue en utilisant et en comparant les données plasmatiques recueillies pour tous les points de dissolution disponibles. On obtient ainsi le reflet complet de la courbe des taux plasmatiques. C'est donc ce niveau de corrélation qui devrait être recherché. Le niveau de corrélation B est basé sur les moments statistiques. Plutôt que de faire correspondre tous les points du taux plasmatique avec ceux de dissolution obtenus *in vitro* (comme dans A), on compare le temps moyen de dissolution *in vitro* avec le temps moyen du temps de dissolution *in vivo* ou avec le temps moyen de résidence *in vivo*. Le niveau C de corrélation est caractérisé par une relation entre un paramètre de dissolution *in vitro* et un paramètre pharmacocinétique. Elle n'est pas vraiment applicable pour le développement d'une forme à libération contrôlée. Elle ne peut être utilisée que dans le contrôle de qualité. Le niveau D de corrélation est une simple relation qualitative entre le temps de désagrégation *in vitro* et les performances *in vivo* de la forme. Ce niveau de corrélation n'est en aucun cas suffisant pour être utilisé lors du développement d'une forme à libération contrôlée.

L'établissement de la corrélation *in vitro* - *in vivo* peut s'effectuer en quatre étapes: dans la première étape, on prépare deux ou plusieurs formes galéniques d'un principe actif dont les performances *in vivo* sont bien établies. Ces formes galéniques doivent posséder des propriétés pharmacocinétiques différentes. La deuxième étape

est le développement d'une méthode *in vitro* permettant la discrimination entre les formes galéniques préparées. La troisième étape est la détermination de la biodisponibilité des formes galéniques et la quatrième étape consiste en l'établissement des corrélations *in vitro* - *in vivo* en utilisant la méthode de convolution-déconvolution. Des méthodes plus fondamentales peuvent être utilisées pour évaluer *in vivo* les formes administrées oralement. Parmi ces méthodes, on retrouve: la radiologie, l'endoscopie, la radiotélémétrie et la gamma scintigraphie [Davis, 1987].

1.5. Description des systèmes polymériques pour l'administration orale de médicament

1.5.1. Diffusion et transfert de masse

La diffusion est un phénomène physique par lequel la matière est transportée d'un endroit à un autre sous l'effet de collisions atomiques ou moléculaires aléatoires. La diffusion peut être représentée par un transfert de masse (atomes, molécules ou particules) sous l'effet d'une force. Responsable du flux de la matière, cette force, attribuable à la création d'un gradient de concentration de l'espèce diffusante, génère un flux de matière en direction des zones de concentrations décroissantes.

Le phénomène de transfert de masse est applicable à plusieurs processus tels que la dissolution, la cristallisation, la séparation, la distillation, l'absorption et la désorption. La diffusion est aussi omniprésente dans plusieurs processus de transport membranaire et est impliquée dans la perméation et la distribution des médicaments dans l'organisme. La diffusion est aussi le mécanisme de transport par lequel la grande majorité des formes médicamenteuses libèrent une substance active [Peppas and Ségot-Chicq, 1985].

Lorsque, dans un matériau homogène, les concentrations d'un composé varient en différents points, ce composé a tendance à diffuser (transfert de masse) de telle sorte que les concentrations s'établissent de façon uniforme dans le matériau [Bruck, 1983]. La même observation peut être faite pour deux milieux différents où la

concentration en composé est supérieure dans l'un de ces milieux. C'est cette différence de répartition qui provoque la diffusion des molécules, de la forme médicamenteuse vers le milieu de dissolution, et qui assure la libération des principes actifs. La loi de Fick décrit la diffusion:

$$J = -D \frac{dc}{dx} \quad \text{équation 1.1}$$

où: J = Flux de la matière diffusante (g/cm².sec)
 D = Coefficient de diffusion du principe actif (cm²/sec)
 c = Concentration en soluté (g/cm³)
 x = Distance de diffusion (cm)

Le signe négatif indique que J a un sens opposé au vecteur gradient de la concentration.

1.5.2. Classification des systèmes de libération selon le mécanisme de transfert de masse

En général, les systèmes de libération sont classés selon la nature du transfert de masse du médicament s'effectuant à partir d'une forme posologique. On retrouve généralement quatre grandes classes [Langer and Peppas, 1983]:

- 1- Les systèmes contrôlés par la diffusion
- 2- Les systèmes contrôlés par le solvant
- 3- Les systèmes contrôlés chimiquement
- 4- Les systèmes contrôlés magnétiquement

En se basant sur la théorie de diffusion (loi de Fick) et de transfert de masse, il est possible de modifier le temps de libération du principe actif en modifiant sa solubilité. Il est toutefois préférable de modifier le temps de libération du médicament en modifiant le milieu dans lequel il doit diffuser, plutôt que de modifier le principe actif par des moyens chimiques qui peuvent altérer son efficacité.

Les polymères sont fréquemment utilisés pour modifier localement la solubilité et la diffusion des principes actifs. Les notions de la loi de Fick peuvent aussi être appliquées pour caractériser la diffusion et la libération d'un principe actif au moyen de ces systèmes. On doit toutefois tenir compte du type de polymère et de la forme utilisée (réservoir ou matricielle). Les polymères utilisés peuvent être aussi classés en trois catégories, selon le type de réseau formé: les réseaux macroporeux, caractérisés par des pores de 0.1 à 1.0 μm (le transfert de masse du principe actif est surtout effectué par convection); les réseaux microporeux, caractérisés par des pores de 100 à 150 Å (diffusion régie par les caractéristiques géométriques de la structure poreuse ainsi que le coefficient de partage) et les réseaux non poreux, formés par des chaînes macromoléculaires étroitement associées (la diffusion moléculaire serait de loin le mécanisme prépondérant).

D'une façon plus pratique, il est plutôt rare que la diffusion d'un principe actif soit régie par un seul mécanisme; il est donc fort probable que la libération du médicament soit influencée par la combinaison des divers mécanismes [Sinko and Kohn, 1993].

1.5.3. Analyse de la cinétique de libération d'un médicament

La détermination des paramètres cinétiques de libération d'un principe actif à partir d'un système polymérique peut être effectuée en utilisant l'équation 1.2 [Peppas, 1985]:

$$M_t / M_\infty = kt^n \quad \text{équation 1.2}$$

- où: M_t = quantité de médicament libérée au temps t
 M_∞ = quantité totale de médicament libérée
 t = temps
 k = constante cinétique
 n = constante caractéristique du type de transport

La valeur de n (Tableau 1.2) nous renseigne sur la linéarité du profil de libération d'un médicament et permet de donner une indication du type de transfert de masse s'effectuant à travers le réseau polymérique [Park and al., 1993]. Il faut cependant demeurer vigilant lorsqu'on utilise cette équation dans le but de caractériser le mécanisme de transfert de masse impliqué. Cette équation très simplifiée fournit les paramètres cinétiques mais ne permet pas de déterminer si ceux-ci sont la résultante de plusieurs mécanismes.

Tableau 1.2: Présentation des divers types de transport de médicaments en fonction de la valeur de l'exposant diffusionnel (n).

Exposant diffusionnel de la libération (n)	Type de libération	Cinétique de libération (dM/dt)
$n=0,5$	Diffusion fickienne	$t^{-0,5}$
$0,5 < n < 1,0$	Diffusion anomale	t^{n-1}
$n=1$	Transport cas II	(t^0) ordre-zéro
$n > 1$	Transport super cas II*	t^{n-1}

* Transport super cas II : La vitesse de libération de la molécule médicamenteuse augmente en fonction du temps [Peppas et Bindschaedler, 1986].

1.5.4. Systèmes contrôlés par la diffusion

Les formes orales à libération contrôlée varient selon leurs mécanismes de contrôle de libération, leurs aspects, leurs concepts de fabrication ou leurs performances. On retrouve essentiellement deux grandes catégories:

- Systèmes de libération de type réservoir
- Systèmes matriciels

1.5.4.1. Systèmes réservoirs

Un système réservoir peut être défini comme un système présentant un compartiment interne qui contient un médicament qui diffuse vers l'extérieur à travers la membrane recouvrant le compartiment interne, lorsqu'il est placé dans un milieu de dissolution. En pratique, les systèmes réservoirs peuvent présenter une

multitude de formes (comprimés, granules, micrograins placés en gélules ou en comprimés, etc.) mais ont en commun une barrière limitant la diffusion du médicament vers le milieu de dissolution.

L'équation de Fick peut facilement être adaptée pour caractériser la diffusion d'un principe actif à partir de systèmes à libération contrôlée sous forme de réservoir [Krówczyński, 1987 (c)].

$$\frac{dQ}{dt} = \frac{D \cdot S \cdot A}{x} \cdot (C_1 - C_2) \quad \text{équation 1.3}$$

- où :
- $\frac{dQ}{dt}$ = Quantité de médicament (g) qui diffuse par unité de temps (sec)
 - D = Coefficient de diffusion de la molécule à travers la membrane (cm²/sec)
 - S = Coefficient de partage de la substance entre l'enrobage et la phase aqueuse du TGI
 - A = Surface (cm²) de la membrane
 - C₁ = Concentration de la solution saturé en principe actif (g/cm³)
 - C₂ = Concentration en principe actif du coté du TGI (g/cm³)
 - x = Épaisseur de la membrane (cm)

En principe, on constate que la libération de médicament à partir de ces formes est caractérisée par une cinétique d'ordre zéro tant que le compartiment interne est saturé en principe actif. La vitesse de libération est étroitement liée à la solubilité du médicament. La cinétique de diffusion peut être modifiée en changeant l'épaisseur de la barrière ou le coefficient de diffusion du médicament à travers la membrane. Par exemple, la perméabilité de la membrane peut être modifiée en y ajoutant des polymères de nature plus hydrophobe ou hydrophile.

Désavantages des systèmes réservoirs [Doelker, 1985 (a)]

- Possibilité d'un relargage brusque de la totalité du principe actif suite à une rupture accidentelle de l'enrobage.
- Présence d'une phase de latence au début de la libération ce qui a comme conséquence de retarder le soulagement des symptômes.
- Systèmes relativement complexes et généralement assez dispendieux.

- L'ordre zéro peut être obtenu sur une période de temps limité, tant que le compartiment interne demeure saturé en principe actif.

1.5.4.2. *Systèmes matriciels*

Une matrice peut être définie comme un support constitué d'un excipient plus ou moins inerte et formant un réseau destiné à piéger un médicament [Salomon et Doelker, 1980]. La façon la plus simple et économique d'obtenir un système à libération lente est de mélanger physiquement une substance biologiquement active avec un polymère adéquat, puis de compresser le mélange. La simplicité technologique que nécessite la formulation de comprimés, l'administration d'une quantité précise de principe actif à chaque comprimé, la facilité d'emballage et de manipulation contribuent certainement à la large utilisation de cette forme d'administration [Short and Verbanac, 1971]. Le médicament peut aussi être dispersé ou solubilisé dans une solution de polymère et une matrice peut être obtenue après évaporation du solvant. Puisque le médicament est emprisonné dans un réseau polymérique, il n'est plus aussi disponible que lorsque le médicament est utilisé seul. Le polymère doit s'hydrater ou se dissoudre ou se désintégrer avant que le médicament puisse se dissoudre et diffuser au travers de la matrice polymérique. Dans ce type de système à libération lente, le médicament n'est pas attaché chimiquement au polymère; il est simplement emprisonné dans la matrice polymérique. Puisqu'il n'y a pas de lien chimique entre le polymère et le médicament, ce dernier demeure pleinement actif et peut exercer son activité aussitôt libéré. Le polymère est donc strictement un véhicule servant à libérer le médicament dans le corps [Dunn, 1991]. Le médicament peut être incorporé dans la matrice à une concentration inférieure (dissous) ou supérieure (dispersé) à sa solubilité et la nature de la matrice polymérique peut être poreuse ou non poreuse. Les matrices obtenues peuvent avoir une multitude de géométries et la géométrie a une influence considérable sur les profils de libération [Doelker, 1985 (b)].

L'absence de tout risque d'une libération brusque de la totalité du médicament par suite d'une rupture de l'enrobage, l'absence d'un temps de latence, une résistance mécanique supérieure et une fabrication plus simple et économique sont des arguments qui font des systèmes matriciels le mode de libération contrôlée le plus fréquemment rencontré [Ingani, 1987].

La classification des systèmes matriciels peut être effectuée suivant plusieurs critères (structure de la matrice, cinétique de libération, nature chimique et propriétés des matériaux utilisés). En se basant sur la nature du polymère contrôlant la libération de médicament, on peut classer les différents systèmes matriciels comme suit :

- 1) Matrices hydrophiles
- 2) Matrices inertes
- 3) Matrices lipidiques

1.5.4.2.1. Matrices hydrophiles

En plus des avantages inhérents à l'ensemble des formes à libération prolongée, le procédé de fabrication des matrices hydrophiles est intéressant en raison de la technologie relativement simple qu'il requiert, de sa rapidité et de son coût réduit.

Les matrices hydrophiles sont le plus souvent constituées à partir d'un polymère appartenant à l'une de ces trois classes [Buri et Doelker, 1980]:

- dérivés cellulosiques [Ford et al., 1987]
- polysaccharides non cellulosiques [Visavarungroj and Remon, 1992]
- autres polymères [Davidson and Peppas, 1986 (a) et (b)]

En effectuant un choix judicieux de l'agent gélifiant, accompagné d'une formulation adaptée aux propriétés physico-chimiques du principe actif, on peut obtenir une libération de principe actif qui soit indépendante du pH du milieu digestif et de la motilité du tractus gastro-intestinal. Parmi les polymères pouvant être utilisés dans la préparation de matrices hydrophiles, plusieurs sont solubles dans l'eau. Une liste non exhaustive de ce type de polymères est présentée dans le

Tableau 1.3 [Dunn, 1991]. Les polysaccharides et leurs dérivés constituent une classe de choix et continuent d'être largement utilisés pour la formulation de matrices hydrophiles. Cette popularité des matrices hydrophiles à base de polysaccharides est probablement due aux nombreux avantages qu'elles possèdent sur les autres matrices de nature inerte ou lipidique [Melia, 1991].

Avantages des matrices hydrophiles à base de polysaccharides :

- Formulation simple
- Possibilité de contenir jusqu'à 80 % p/p de principe actif
- Économiques et la plupart sont reconnus comme étant sécuritaires « GRAS »
- Une large gamme de polysaccharides est disponible et la plupart peuvent être utilisés en compression directe.
- Biodégradables. Contrairement aux matrices inertes, la plupart des matrices à base de polysaccharides subissent une érosion lors du passage de la forme dans le TGI évitant ainsi l'accumulation de matrices vidées de leur contenu au niveau intestinal.
- Versatilité (peut être utilisé pour plusieurs types de principes actifs)

Les procédés de fabrication des matrices hydrophiles sont relativement simples et ne posent pas de problème particulier. La compression directe de l'agent gélifiant peut être effectuée sans granulation préalable si celui-ci possède des propriétés de cohésion et d'enchevêtrement suffisantes [Buri et Doelker, 1980]. La fabrication peut également inclure une étape de granulation par voie humide à l'aide d'une solution alcoolique [Ventouras et Buri, 1976; Lapidus and Lordi, 1966]. La granulation sèche peut être également utilisée, mais cette procédure est assez rare [Klaudianos, 1972]. Les comprimés à libération prolongée, régis par le gonflement illimité du polymère, peuvent être constitués du mélange d'une ou de plusieurs substances actives avec un agent gélifiant.

Tableau 1.3 : Exemple de polymères solubles dans l'eau pouvant être utilisés dans la formulation de matrices hydrophiles [Dunn, 1991].

Polyéthylène glycol	Dextran
Polyvinyl alcool	Alginate de sodium
Poly (vinyl pyrrolidone)	Acide polyacrylique
Poly (hydroxyéthylène-2 méthacrylate)	Acide polyméthacrylique
Poly (acrylamide)	poly-styrène sulfonate de sodium
Hydroxypropyl cellulose	Poly diméthylaminoéthyl méthacrylate
Hydroxypropylméthyl cellulose	Gélatine
Amidon	Carboxyméthyl cellulose sodique

Mécanisme de libération

Au contact du milieu de dissolution, une quantité de médicament (surtout provenant de la surface du comprimé) est rapidement dissoute et libérée instantanément (« burst effect »). L'hydratation des macromolécules composant l'agent gélifiant s'effectue rapidement, générant ainsi une barrière gélifiée qui va progressivement augmenter; en traversant cette barrière, le principe actif va diffuser vers le milieu de dissolution (Figure 1.3). Le processus et la vitesse de libération dépendront des caractéristiques physico-chimiques du comprimé lui-même, de la couche hydratée, de la porosité et de la nature de la substance active. Au cours de son cheminement au travers le tractus gastro-intestinal, la matrice hydratée ne se désagrège pas, mais ses dimensions seront modifiées. La barrière ainsi formée s'oppose à la libération rapide du médicament et contrôle également la pénétration de l'eau de l'extérieur vers l'intérieur du comprimé [Buri et Doelker, 1980]. La vitesse de libération d'un médicament, à partir d'une matrice hydrophile non dégradable dans laquelle un médicament est dissous ou dispersé, diminue progressivement en fonction du temps [Lee and Good, 1987].

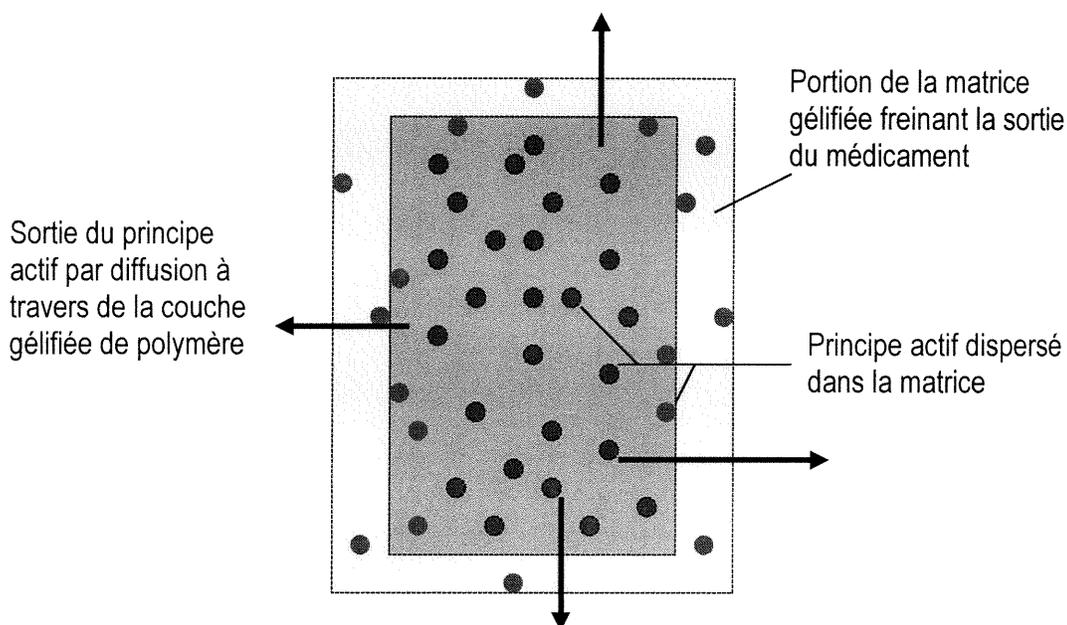


Figure 1.3 : Représentation simplifiée de la libération d'un principe actif dispersé dans une matrice hydrophile.

Pour une matrice se présentant sous la forme d'un disque plat, de surface relativement constante lors de la dissolution et dont la concentration du médicament est supérieure à sa solubilité, l'équation d'Higuchi peut être appliquée pour analyser la cinétique de libération [Higuchi, 1963].

$$M = [C_s (2A - C_s) Dt]^{1/2} \quad \text{équation 1.4}$$

où M est la quantité de médicament libérée par unité de surface au temps t (g/cm^2), C_s est la solubilité du médicament dans la matrice (g/cm^3), A est la concentration du médicament (g/cm^3), t est le temps (sec) et D représente le coefficient de diffusion du médicament (cm^2/sec). Puisque la vitesse de libération d'un principe actif à partir d'un système matriciel hydrophile diminue en fonction de la racine carrée du temps, il peut être difficile de fabriquer une formulation permettant de libérer un médicament à vitesse constante et de façon reproductible sur une longue période de temps. Pour cette raison, des systèmes matriciels présentant des géométries

particulières ont été proposés pour compenser la diminution de la vitesse de libération [Doelker, 1985 (b) ; Rhine et al., 1980].

Un survol de la littérature concernant l'utilisation de l'amidon et de ses dérivés comme polymères utilisés pour la formulation de systèmes matriciels sera présenté, de façon plus détaillée, dans le chapitre 2.0. On y verra, entre autres, que pour certains dérivés de l'amidon, leurs comportements diffèrent des polymères hydrophiles par leurs mécanismes d'hydratation et de libération.

1.5.4.2.2. Matrices inertes

Le principal avantage des matrices inertes, dont la libération de médicament est contrôlée par la structure poreuse, est l'indépendance relative de la libération face aux conditions extérieures, notamment la composition en sucs digestifs, assez variable d'un individu à l'autre. Il est possible de moduler la vitesse de libération simplement en changeant le diamètre des pores du réseau [Salomon et Doelker, 1980] ou en modifiant la géométrie des matrices inertes. Béchard a démontré qu'il était possible d'obtenir une cinétique de libération *in vitro* s'approchant de l'ordre zéro pour une période de temps supérieure à un mois à partir de matrices inertes enrobées (implants) [Béchar, 1987]. Ces cinétiques de libération ont été obtenues à partir d'un disque biconcave enrobé sur toutes ses faces avec un polymère peu perméable au médicament et dont l'épaisseur diminue de la périphérie vers le centre (elle est nulle au centre). Une ouverture est pratiquée au centre de la matrice pour permettre au médicament de diffuser de la matrice vers le milieu extérieur [Béchar, 1987]. Le polyéthylène, le copolymère de l'acide acrylique, la silicone et l'éthylcellulose sont les polymères les plus souvent utilisés pour la formulation de matrices inertes. Les polymères utilisés pour ce type de matrice doivent aussi répondre aux spécifications suivantes:

- ne pas être toxiques, notamment suite à l'action des sucs digestifs qui pourraient libérer les additifs utilisés lors de leur fabrication
- être totalement inertes et non réactifs envers le principe actif
- former, après compression, une matrice ayant une structure poreuse mais cohérente

Tout comme dans le cas des matrices hydrophiles, le procédé de fabrication est relativement simple et ne fait pas appel à des technologies particulières. On peut réaliser des pastilles par compression directe du mélange du polymère et du principe actif [Carli and Simoni, 1977] ou par granulation humide. La libération du principe actif s'effectue par épuisement graduel du médicament contenu dans la matrice lors de la pénétration par capillarité du milieu de dissolution. Le médicament dispersé dans le support se dissout et diffuse le long des canalicules libres de substance solide. Si la non toxicité relative des plastiques purs a pu être mise en évidence, il n'en va pas toujours de même pour les additifs de polymérisation. C'est pourquoi, les matrices inertes de type non plastique sont favorisées par l'industrie pharmaceutique [Salomon et Doelker, 1980].

1.5.4.2.3. Matrices lipidiques

Les matrices lipidiques recouvrent à la fois les esters de monoalcools supérieurs et d'acides carboxyliques à longues chaînes aliphatiques, les glycérides, les alcools et les acides gras [Doelker et Buri, 1981]. Les matrices lipidiques de nature glycérique subissent une légère bioérosion due à l'action de la lipase. La libération de principe actif dépend donc de la composition enzymatique des sucs digestifs, ce qui doit être pris en considération lors de la formulation d'une matrice à partir de ces matériaux. Par contre, les excipients lipidiques sont moins sensibles à l'humidité et ne présentent pas les inconvénients inhérents aux dérivés synthétiques constituant les matrices inertes. Les méthodes pour la fabrication de ce type de matrice sont nombreuses [Doelker et Buri, 1981]: fusion et congélation (inclusion) [Schwartz et al., 1968 ; Lazarus et al., 1964], évaporation [Dakkuri et al., 1978], congélation par nébulisation [Hamid and Becker, 1970], dessiccation par nébulisation [Asker and Becker, 1966], dispersion aqueuse [Robinson and Becker, 1968], granulation humide [Wiseman and Federici, 1968] et compression directe [D'arcy et al., 1971 ; Desai et al., 1965].

La libération de médicament peut être effectuée selon deux mécanismes: a) érosion de la matrice par lipolyse enzymatique ou b) diffusion du soluté le long des canalicules vers le milieu de dissolution [Doelker et Buri, 1981]. Le cheminement à travers la matrice lipidique nécessite un haut niveau de liposolubilité du principe actif et par conséquent, il est peu susceptible d'avoir une libération suffisante dans le milieu aqueux. Par contre, la fraction de médicament libéré à partir de comprimés susceptibles d'être érodés est proportionnelle à la quantité d'excipient hydrolysé [Ponomareff-Bauman et al., 1968].

1.5.5. Les systèmes à libération contrôlée par le solvant

1.5.5.1. Pompes osmotiques

Plusieurs techniques ont été développées dans le but de contrôler la libération de médicament. L'utilisation de la pression osmotique comme mécanisme régulateur permettant d'obtenir une libération contrôlée réelle (indépendant de la composition des fluides du TGI) d'un médicament est un concept intéressant. Plusieurs brevets (240 ont été répertoriés) et publications ont traité de cette technologie [Santus, 1995] et il semble que la plupart des brevets reliés aux pompes osmotiques (environ 90 %) soient détenus par la firme Alza Corporation.

En général, les divers systèmes activés par la pression osmotique peuvent être classés à l'intérieur des catégories suivantes :

- Pompes Rose-Nelson
- Pompes Higuchi-Leeper [Higuchi and Leeper, 1973]
- Pompes Higuchi-Theeuwes [Higuchi and Leeper, 1976]
- Pompes Theeuwes élémentaires [Theeuwes and Higuchi, 1974]
- Pompes à compartiments multiples [Wong et al., 1988]

La première pompe osmotique développée pour contrôler la libération d'un principe actif serait celle de Rose-Nelson en 1955 [Santus, 1995]. En se basant sur le système Rose-Nelson, et en remplaçant le diaphragme qui exerçait la pression sur le compartiment contenant le médicament par un piston mobile, la compagnie

Cyanamid a été la première à breveter un système de pompe osmotique. Au début des années 1970, la compagnie Alza Corporation a apporté plusieurs modifications et simplifications au système Rose-Nelson, donnant ainsi la naissance aux pompes Higuchi-Leeper. Le système Higuchi-Theeuwes descend aussi du système Rose-Nelson.

L'invention de la pompe osmotique élémentaire par Theeuwes chez Alza Corp. (système OROS[®]) en 1974 a nettement contribué à rendre ce système plus populaire. Le compartiment de sel présent dans le système Higuchi-Theeuwes a été éliminé. C'est le médicament lui-même qui joue le rôle d'agent osmotique. Le système est essentiellement constitué d'un comprimé de médicament très soluble, enrobé par une membrane semi-perméable non extensible, généralement constituée d'acétate de cellulose, dans laquelle un minuscule trou est effectué. La perforation d'un trou parfaitement circulaire aux dimensions constantes avec une grande rapidité a été essentiellement la plus grande difficulté technologique. Le développement d'un système de perforation au laser couplé à un système optique de correction [Theeuwes et al., 1978] a permis d'obtenir une nette amélioration. Comme il été mentionné au point 1.5.4.1 (systèmes réservoirs), la libération d'un principe actif à partir de ce type de système est d'ordre zéro, tant et aussi longtemps que le milieu interne demeure saturé en principe actif. L'utilisation du système OROS[®] est toutefois limitée aux médicaments dont la solubilité est assez élevée (2 à 5 % p/p).

Les pompes osmotiques à compartiments multiples ont été développées pour permettre le contrôle de la libération de molécules peu solubles [Wong et al., 1988]. La sortie du médicament est forcée par l'expansion du compartiment voisin contenant un agent osmotique. Il est aussi possible de disperser finement le médicament dans un polymère hydrophile, au pouvoir osmotique élevé, pour forcer le médicament à sortir par le minuscule trou. Le Procardia XL[®] (nifédipine) est un bon exemple d'un système à deux compartiments. La chambre interne est constituée d'un mélange dispersé de médicament avec des polymères hydrophiles (HPMC, polyoxyéthylène) et du chlorure de sodium. La chambre osmotique entourant le compartiment interne est constituée d'un mélange des deux polymères. La couche de polymères hydrophiles est comprimée autour du noyau interne constitué du mélange

de médicament et des polymères. Le comprimé à noyau est ensuite enrobé avec une membrane semi-perméable dans laquelle un trou est pratiqué avec un laser [Santus, 1995].

1.5.5.2. Polymères à gonflement limité (polymères vitreux)

Comme il a été mentionné au point 1.5.4.2.1., la libération de médicaments à partir de la majorité des systèmes matriciels est régie par la diffusion du médicament. Généralement, la vitesse de libération d'un médicament à partir d'un système matriciel décroît en fonction de la racine carrée du temps [Doelker, 1985 (a)].

Les polymères impliqués dans les systèmes à gonflement limité (constitués de polymères à l'état vitreux à la température du corps) qui sont capables de libérer un principe actif à une vitesse constante (selon un ordre zéro) suscitent beaucoup d'intérêt [Davidson and Peppas, 1986 (a) et (b) ; Peppas and Franson, 1983]. Ces systèmes sont aussi stérilisables, possèdent une grande versatilité et peuvent être utilisés dans la fabrication de formes orales et rectales ainsi que pour la préparation d'implants [Peppas et Bindschaedler, 1986]. Leur caractère hydrophile et leur perméabilité peuvent être modulés par la nature et la proportion du comonomère ajouté, ainsi que par le degré de réticulation.

Nature et préparation de ces polymères

Les polymères pouvant servir à la préparation des matrices à gonflement limité doivent répondre à certains critères:

- Être vitreux à la température de libération (37 °C). Consécutivement à la pénétration du solvant, la température de transition vitreuse est abaissée en dessous de 37 °C.
- Être insoluble et subir un gonflement limité dans les milieux aqueux et biologiques (pas plus de 100 % de sa masse initiale).
- Ne pas présenter de toxicité lorsqu'ils sont mis en contact avec les fluides biologiques qui pourraient extraire des sous-produits de fabrication.

La limitation du gonflement est obtenue soit par réticulation du polymère, soit par copolymérisation avec des monomères formant des zones cristallines dans le polymère. Parmi les polymères utilisés le plus fréquemment, on retrouve [Peppas et Bindschaedler, 1986] :

- l'alcool polyvinylique et ses copolymères avec le polyacétate de vinyle et le polyméthacrylate de méthyle;
- la poly (N-vinyl pyrrolidone) et ses copolymères avec le polyacétate de vinyle ou de divers acrylates;
- le polyéthylène glycol (PEG);
- le polyméthacrylate de 2-hydroxyéthyle (PHEMA) et ses copolymères avec le méthacrylate de méthyle, l'acétate de vinyle et la N-vinyl-2-pyrrolidone.

Ces polymères sont généralement préparés à partir de monomères auxquels on ajoute un initiateur de polymérisation et un éventuel agent de réticulation. La plupart du temps, la polymérisation et la réticulation s'effectuent simultanément, mais il est possible de synthétiser le polymère, puis de le réticuler par la suite [Doelker, 1985 (b)]. La réaction est conduite dans des moules de géométrie appropriée, permettant d'obtenir des films plans, des disques, des cylindres ou des sphères [Peppas et Bindschaedler, 1986].

L'incorporation d'un principe actif peut s'effectuer soit avant l'étape de polymérisation et de réticulation, soit après la polymérisation, mais avant la réticulation ou encore par imbibition du gel terminé dans une solution concentrée de principe actif. L'incorporation du principe actif (poudre ou solution très concentrée) avant l'étape de réticulation peut mener à une réaction chimique du principe actif avec les monomères ou l'agent de réticulation ou encore, à la dégradation du médicament par le chauffage parfois nécessaire à certaines étapes de fabrication (réticulation ou séchage) [Peppas et Bindschaedler, 1986]. D'un autre côté, l'incorporation par imbibition est préférable car il permet d'éviter une éventuelle réaction avec le principe actif et permet de débarrasser le polymère réticulé des résidus de réaction par lavage. Toutefois, l'incorporation par imbibition ne permet pas de piéger des grandes quantités de principe actif [Doelker, 1985 (b)].

Degré de réticulation

Les travaux consacrés à cet aspect ont révélé que l'augmentation du degré de réticulation diminue les taux de gonflement du polymère et de libération du principe actif. Elle contribue aussi à l'augmentation de la viscosité du polymère réticulé et à une diminution du coefficient de diffusion du solvant, à la réduction de la diffusion du principe actif en entraînant une diminution de la mobilité des chaînes macromoléculaires conduisant ainsi à une réduction de l'espace de diffusion. L'accroissement du degré de réticulation des polymères conduit généralement à l'obtention de profils de libération moins linéaires (qui s'écartent plus de l'ordre zéro).

Mécanisme de libération

La pénétration de l'eau dans un polymère vitreux contribue à l'abaissement de la température de transition vitreuse du polymère qui devient caoutchouteux. Le processus engendre des contraintes mécaniques au niveau de l'interface définie par le changement de phase du polymère, auquel s'additionne le gradient de concentration du médicament formé pendant la dissolution pour générer le transport du solvant plus loin dans les couches non hydratées de la matrice [Peppas and Sinclair, 1983]. Un principe actif incorporé à un polymère initialement vitreux ne peut pas diffuser en raison du coefficient de diffusion du principe actif qui est pratiquement nul dans ces conditions. Toutefois, suite à la pénétration de l'eau, le médicament peut diffuser de la région ayant subi la transition de l'état vitreux à caoutchouteux vers le milieu de dissolution et par conséquent, c'est l'avancement du front de pénétration qui contrôle le processus de libération. Au niveau moléculaire, la relaxation des chaînes macromoléculaires peut être considérée comme la résultante du gonflement du polymère. Ce processus est caractérisé par un temps de relaxation qui dépend du poids moléculaire du polymère, de son caractère hydrophile, de la nature des interactions entre le solvant et le polymère et du degré de réticulation. Ce sont ces phénomènes de relaxation qui contrôlent la diffusion du principe actif dans le polymère et lorsque la proportion de la substance médicamenteuse est élevée, ils tendent à être supprimés [Peppas et Bindschaedler, 1986].

Désavantages relatifs aux systèmes à gonflement limité

- La polymérisation et la réticulation des polymères vitreux peuvent comporter plusieurs étapes relativement complexes et longues;
- Les procédés d'incorporation d'un principe actif sont jusqu'à présent tout à fait inadéquats:
 - a) Soit on incorpore le principe actif avant ou pendant la réticulation (il y a risque éventuel de réticuler le principe actif ou encore, de le dénaturer à cause des conditions imposées lors de la réticulation) sans laver les éventuels résidus de polymérisation et de réticulation.
 - b) Soit on introduit par imbibition du polymère réticulé formé dans une solution concentrée de principe actif. Ce procédé ne peut que conduire à l'incorporation de faibles quantités de médicament. Évidemment, l'incorporation par imbibition ne s'effectue qu'après une longue période de trempage.
- Le contrôle de libération ne peut être obtenu que pour des faibles quantités de principe actif introduites dans le polymère, autrement la libération devient fickienne.

Il est clair que l'intérêt attribué aux polymères vitreux est fondé. Il est probable que certaines applications y trouvent leur compte, mais les problèmes liés à l'incorporation des principes actifs, ainsi que la possibilité que le principe actif soit impliqué dans une réaction chimique lors de fabrication de la forme (incorporation de la drogue avant ou pendant la polymérisation et la réticulation), rendent les polymères vitreux moins attrayants. Rappelons que le système de libération contrôlée « idéal » devrait être facile, économique et rapide à fabriquer. Il doit être facile à utiliser (i.e. compression directe), non toxique (un produit propre et chimiquement stable) et il doit permettre une libération adaptée (pas nécessairement constante) et contrôlable. On doit pouvoir y incorporer des quantités élevées de principe actif, sans devoir lui imposer les contraintes chimiques et mécaniques associées à la fabrication du système. Le système devrait être indépendant des variations de composition du milieu biologique (TGI) et indépendant des variables technologiques (variation de la force de compression, etc.) lors de sa fabrication.

1.5.6. Les systèmes à libération contrôlée chimiquement

Les systèmes dans lesquels la libération du médicament est principalement contrôlée par la dégradation du polymère, par la vitesse d'érosion du polymère ou par la vitesse à laquelle le médicament est libéré de la chaîne polymérique principale sont considérées comme des systèmes contrôlés chimiquement. La bioérosion est un processus souvent associé à des changements macroscopiques (déformation ou désintégration de la structure), des changements physico-mécaniques, une perte de masse et éventuellement la perte de fonctionnalité [Sinko and Kohn, 1993; Rosen et al., 1988]. Les polymères utilisés dans les systèmes biodégradables doivent rencontrer certaines spécifications au niveau de la perméabilité, la biodégradabilité, la biocompatibilité et doivent posséder une résistance mécanique et une flexibilité suffisante. En général, on s'entend pour classer les systèmes contrôlés chimiquement à l'intérieur de trois catégories en se basant sur le mécanisme de bioérosion [Sinko and Kohn, 1993; Park et al., 1993; Rosen et al., 1988].

Le mécanisme I est proposé pour les polymères insolubles dont la chaîne principale est dégradable. Dans ce type de polymère, l'hydrolyse de la chaîne principale du polymère conduit à la production de molécules de poids moléculaires faibles qui sont solubles (Figure 1.4 a).

Le mécanisme II décrit l'érosion d'un polymère réticulé par l'hydrolyse des ponts de réticulation qui sont dégradables. Lorsque les liens de réticulation sont brisés, les chaînes de polymères se dissocient de la matrice et par conséquent libèrent le médicament qui a été préalablement dispersé dans la matrice. Ces systèmes sont plutôt utiles pour contrôler la libération de principes actifs peu solubles (Figure 1.4 b).

Le mécanisme III s'applique aux polymères insolubles dans l'eau qui se solubilisent suite à l'hydrolyse, l'ionisation ou la protonation d'une chaîne latérale. Dans ce type d'érosion, seule la solubilisation du polymère est impliquée et on n'observe pas de changement significatif dans le poids moléculaire du polymère (Figure 1.4 c).

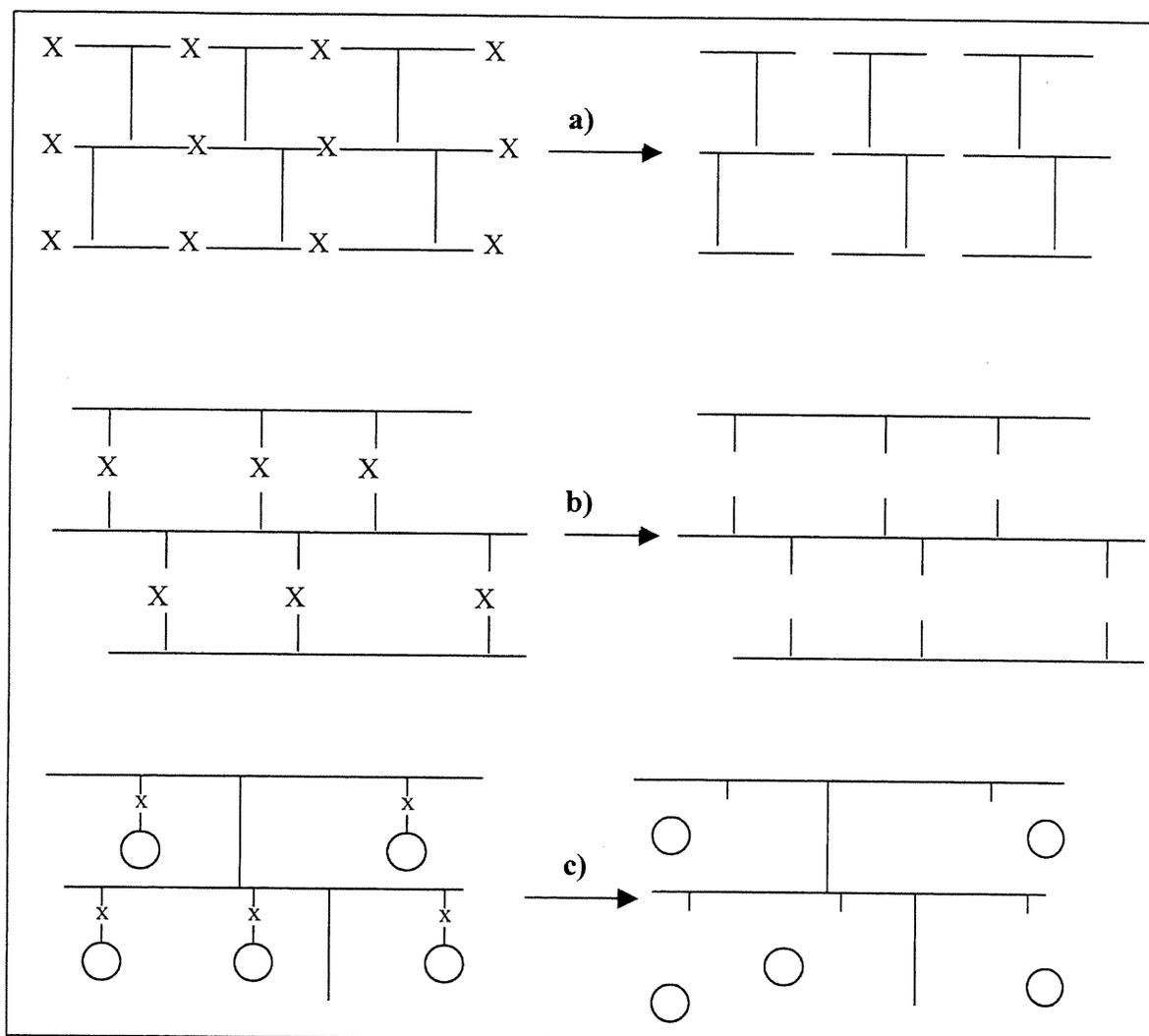


Figure 1.4 : Modèle de dégradation des polymères par clivage de la chaîne principale (a), des ponts de réticulation (b) et des chaînes latérales (c) [Park and al., 1993].

Il peut arriver que plusieurs mécanismes soient impliqués dans l'érosion du polymère. Les divers mécanismes, considérés à l'échelle macroscopique, peuvent être subdivisés en deux catégories suivant l'homogénéité de l'érosion [Rosen et al., 1988]. Ainsi l'érosion hétérogène a lieu lorsque l'hydrolyse se limite à la surface de la forme, alors que l'érosion homogène est le résultat d'une hydrolyse plus ou moins égale dans toute la masse de l'échantillon polymérique. Il est plutôt rare de trouver un mécanisme d'érosion totalement homogène ou totalement hétérogène. En réalité,

l'érosion s'effectue généralement suivant la combinaison des deux mécanismes, mais à des degrés de contribution différents. Il est toutefois possible de prédire la tendance du mécanisme d'érosion en se basant sur le caractère hydrophobe et la morphologie du polymère [Rosen et al., 1988]. Les polymères hydrophobes ont plutôt tendance à subir une érosion hétérogène, alors que pour les polymères hydrophiles, c'est le mécanisme d'érosion homogène qui est favorisé. La plupart des polymères possèdent des domaines cristallins séparés par des régions amorphes. Les régions cristallines d'un polymère ont tendance à être plus résistantes à l'hydratation et, par conséquent, plus un polymère possède des domaines cristallins, plus le mécanisme d'érosion sera hétérogène.

Lorsqu'on considère un système matriciel à base d'un polymère érodable et dans lequel un principe actif est dispersé, la libération du médicament peut être contrôlée par diffusion autant que par l'érosion du polymère. Si l'érosion du polymère est beaucoup plus lente que la diffusion du médicament, la cinétique de libération du principe actif est alors régie par les lois de diffusion applicables aux systèmes matriciels. Toutefois, si la cinétique d'érosion est beaucoup plus rapide que la diffusion de l'actif, alors la cinétique de libération du médicament sera régie par l'érosion du polymère. Il est toutefois bon de se rappeler que pour la plupart des systèmes érodables, la cinétique de libération résulte de la combinaison de la diffusion du principe actif et de l'érosion du polymère [Sinko and Kohn, 1993]. Heller et Baker ont tenté de modéliser la libération d'un actif à partir d'une matrice de l'acide polylactique régie, en partie, par la dégradation homogène du polymère et par la diffusion de l'actif dans la matrice (Figure 1.5) [Heller and Baker, 1980]. En modifiant le modèle d'Higuchi, l'équation suivante a été proposée par Heller et Baker pour répondre aux caractéristiques cinétiques découlant de la combinaison de la diffusion pure et de l'érosion homogène du polymère :

$$\frac{dMt}{dt} = \frac{A}{2} \frac{(2 P_0 \exp(kt) C_0)^{1/2}}{t} \quad \text{équation 1.5}$$

où P_0 est la perméabilité du polymère (cm/sec), C_0 est la concentration initiale en

principe actif (g/cm^3), A est la surface (cm^2), t est le temps (sec) et k est une constante du premier ordre.

Cependant, il peut arriver qu'une cinétique de libération d'ordre zéro ne soit pas nécessaire et parfois non désirable. Parmi les systèmes contrôlés chimiquement, on retrouve aussi une classe de systèmes érodables développés dans le but de libérer le principe actif en fonction des besoins de l'organisme. Ces systèmes répondent à des signaux physiologiques et libèrent le médicament sur demande. Par exemple, en présence d'un fort taux de glucose dans le sang, l'insuline est requise pour réduire la glycémie. Lorsque le taux de glucose est redevenu normal, la présence d'une concentration élevée d'insuline n'est plus nécessaire [Park and al., 1993]. Le besoin de trouver des alternatives aux traitements conventionnels du diabète par injection périodique d'insuline est bien connu [Heller, 1990]. Un système érodable contenant de l'insuline dont la libération peut être modulée par la concentration du glucose sanguin peut présenter beaucoup d'intérêt. À partir d'une formulation contenant de l'insuline, de la glucose oxydase et un polymère dont l'érosion dépend du pH, la libération d'insuline pourrait être modulée par l'érosion du polymère suite à la diminution de pH provoquée par l'acide gluconique produite lors de la réaction du glucose avec la glucose oxydase. Ces systèmes sont décrits plus en détail dans les publications suivantes : Heller, 1990 et 1988 ; Heller et al., 1987 ; Heller and Baker, 1980.

1.5.7. Les systèmes à libération contrôlée magnétiquement

Dans ces systèmes, le principe actif et des billes aimantées sont dispersés uniformément dans une matrice polymérique. Lorsque ce type de matrice est placé dans le milieu de dissolution, la libération du principe actif s'effectue de façon habituelle selon le mécanisme de diffusion. Toutefois, lorsque cette forme est exposée à un champ magnétique oscillant externe, la libération du médicament à partir de la matrice est grandement accélérée [Edelman et al., 1985; Langer and Peppas, 1983 ; Hsieh and Langer, 1983].

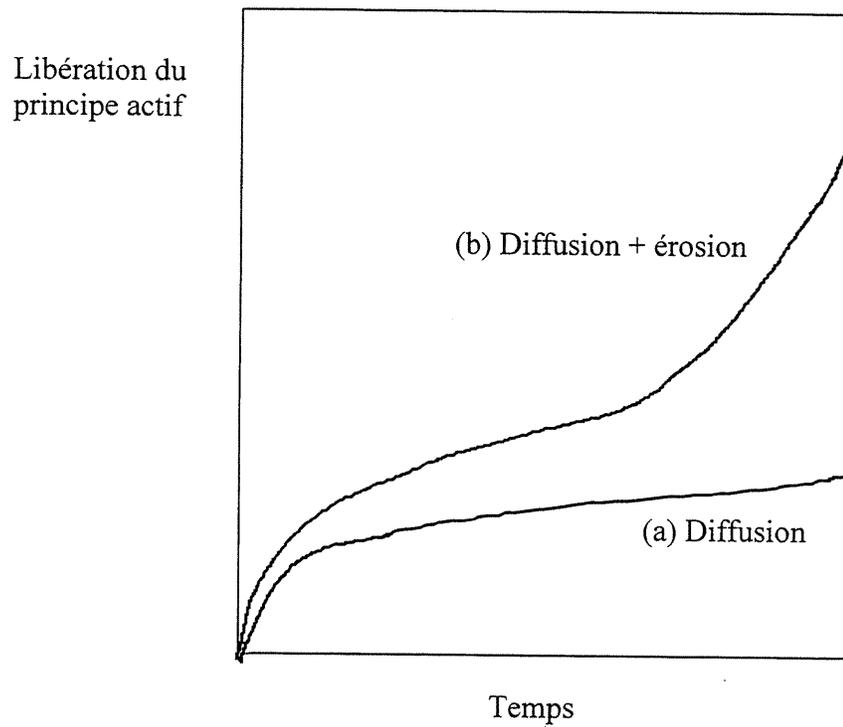


Figure 1.5 : Profil théorique de libération d'un principe actif contrôlé par diffusion (a) et par érosion combinée à la diffusion (b).

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 2.0.: UTILISATION DE L'AMIDON ET DE SES DÉRIVÉS DANS L'INDUSTRIE

2.1. Le rôle de l'amidon dans l'industrie

L'amidon, un composé glucidique produit par photosynthèse, est considéré comme l'une des plus grandes sources d'énergie chez les plantes. Bien que l'amidon soit présent dans les algues et quelques protozoaires et bactéries, on le rencontre essentiellement dans les plantes. Les sources potentielles d'amidon les plus importantes sont représentées par les grains de céréales, les graines de légumineuses et les tubercules. L'amidon commercial provient principalement de l'orge, du blé, du riz, des pommes de terre, du tapioca et du maïs [Lineback, 1986; Elder and Schoch, 1959]. Il est considéré comme l'une des plus importantes ressources naturelles renouvelables trouvant des applications dans les domaines alimentaire, papetier, textile, cosmétique et pharmaceutique.

L'amidon est pondéralement le polysaccharide le plus important de l'alimentation. En plus de l'utilisation courante de l'amidon comme ingrédient dans la préparation d'aliments (pain, pâtisseries, etc.), l'amidon est utilisé à titre d'agent épaississant, liant, gélifiant, stabilisant, agent d'encapsulation, substitut aux lipides et il peut même être utilisé comme fibres alimentaires [Baensch et al., 1996; Garcia et al., 1995; Estman, 1987; Rouau et Thibault, 1987; Young, 1984]. Même si l'amidon est très populaire dans le milieu alimentaire, on rapporte que chaque année, aux États-Unis seulement, environ 3 milliards de kg d'amidon provenant principalement du maïs ont été utilisés à différentes fins industrielles, autres qu'alimentaires [Glenn and Irving, 1995; Doane, 1994]. De cette quantité, environ 1.6 milliard de kg d'amidon sont utilisés chaque année par l'industrie papetière comme adhésif et agent liant. L'industrie du textile est aussi un grand utilisateur d'amidon. L'amidon peut aussi être utilisé pour produire de l'éthanol (carburant pour automobile) et servir de combustible (i.e. produit 18740 KJ/kg de grain de maïs lors de la combustion [Watson, 1987]).

Extraction de l'amidon à partir du grain de maïs

Comme il est mentionné dans le paragraphe précédent, le maïs est l'une des plus importantes sources d'amidon. Le grain de maïs présente un poids de 250-300 mg, d'environ 4 mm d'épaisseur, 8 mm de largeur et 12 mm de longueur. Différentes formes et dimensions de grains peuvent être obtenues en fonction de la variété et de l'environnement. La couleur des grains peut varier du blanc au jaune, orange, rouge, mauve ou brun. Seules les variétés de maïs donnant des grains de couleur blanche ou jaune sont cultivées commercialement. D'une façon générale, le grain de maïs mature contient environ 16 % de son poids sec en eau. Il contient aussi une moyenne de 71.7 % d'amidon, 9.5 % de protéines, 4.3 % de lipides, 1.4 % de cendres, 3.3 % de cellulose et 2.6% de sucre sous forme de glucose [Watson, 1987].

Le grain de maïs contient aussi un embryon et tout le système nutritionnel et enzymatique nécessaire à la croissance et au développement de l'embryon. Il est essentiellement composé du germe, de l'endosperme et du péricarpe. Le germe (10-12 % du poids sec du grain) est constitué de l'embryon et du scutellum (organe assurant la nutrition de l'embryon). On retrouve aussi au niveau du scutellum des organelles nommées sphérosomes contenant de l'huile liquide [Gurr, 1980]. Les sphérosomes contiennent aussi tout le matériel enzymatique nécessaire au métabolisme et à la synthèse de lipides. L'endosperme constitue environ 82-84 % du poids sec du grain et contient environ 86 - 89 % d'amidon. Il est composé de cellules allongées empilées avec des granules d'amidon dans une matrice de protéine. Le péricarpe est une membrane semi-perméable située à la surface externe du grain et représente environ 5-6 % du poids sec du grain. Il est principalement constitué de cellules mortes et jouerait un rôle de protection contre la déshydratation [Watson, 1987].

L'amidon peut être extrait du maïs à partir d'un procédé sec ou humide. Le procédé humide consiste essentiellement en un traitement du maïs par une solution alcaline pour désintégrer et disperser l'endosperme retenant l'amidon. On peut aussi avoir recourt au dioxyde de soufre (SO₂) pour affaiblir la structure de la matrice protéique. L'amidon libéré de la matrice est séparé par centrifugation, puis séché. La matrice protéique (gluten) est aussi récupérée sous une forme presque pure et est

principalement utilisée dans l'industrie alimentaire. Dans le procédé sec, l'amidon est récupéré par aspiration suite à la mouture et au tamisage des grains de maïs. Il est toutefois rapporté que l'utilisation de ce procédé mène parfois à la rupture des granules d'amidon [Watson, 1987].

2.2. La nature et la structure de l'amidon

Le grain d'amidon adopte, pour un stockage efficace de l'énergie, une structure cristalline compacte et peu hydratée. Il est principalement constitué de deux composants polymériques: l'amylose et l'amylopectine [Mua and Jackson, 1995; Young, 1984; Whistler, 1965]. L'amylose est un homopolymère représentant la fraction linéaire de l'amidon et est composé d'environ 4000 unités de D-glucose liés par des liaisons α -1,4 (Figure 2.1).

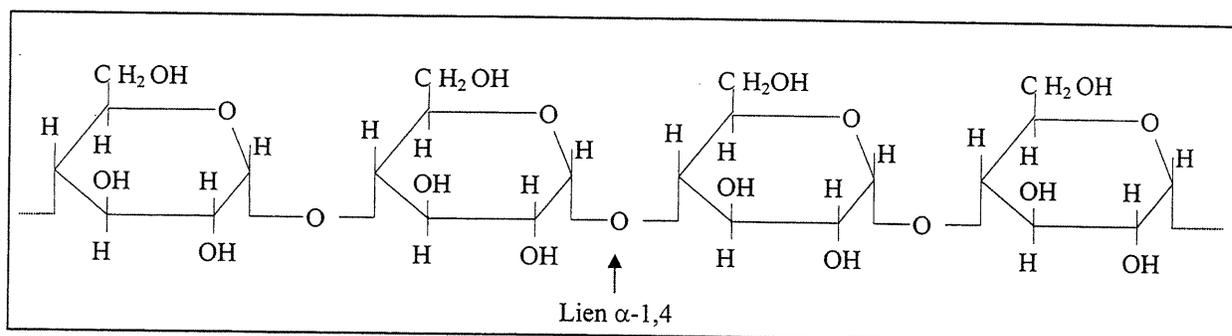


Figure 2.1: Représentation schématique de la structure d'une chaîne d'amylose.

L'amylopectine est la principale constituante glucosidique de l'amidon et est considérée comme l'une des macromolécules végétales les plus volumineuses. C'est un homopolymère formé d'environ 100000 unités de D-glucose liées par des liaisons α -1,4 et qui possède plusieurs ramifications de type α -1,6 (Figure 2.2). Plusieurs auteurs ont aussi rapporté la présence de fractions (5 à 17 %) d'amylose ou d'amylopectine de poids moléculaire intermédiaire [Cura et al., 1995; Mua and Jackson, 1995; Banks and Greenwood, 1966; Whistler and Doane, 1961].

La majorité des amidons contiennent environ 25 - 30 % d'amylose et 70 - 75 % d'amylopectine. Certaines variétés de plantes (hybrides) peuvent contenir 0 % d'amylose (maïs cireux) et jusqu'à 75 % d'amylose (maïs à haute teneur en amylose) [Garcia et al., 1995; Young, 1984].

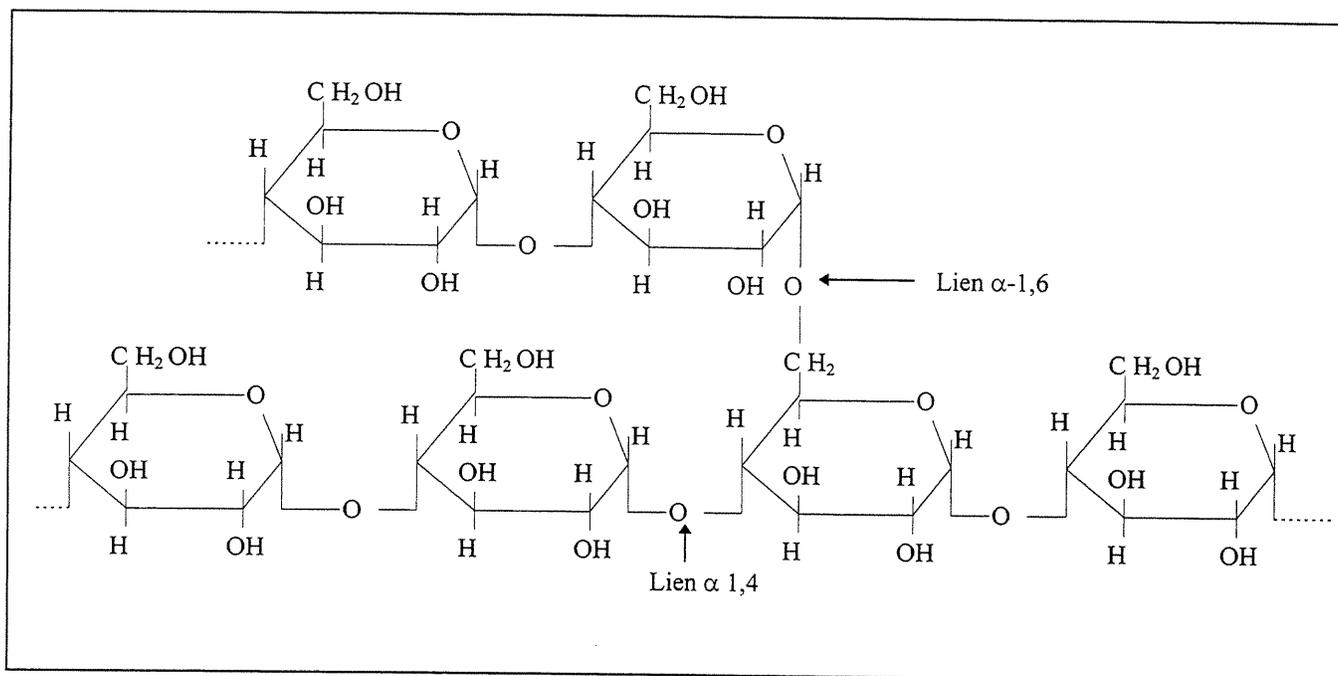


Figure 2.2: Représentation schématique de la structure de l'amylopectine.

La partie cristalline de l'amidon provient de l'arrangement structuré de l'amylopectine au sein du granule, alors que le caractère amorphe provient de l'amylose. Bien que le grain d'amidon ne soit pas parfaitement sphérique, il est reconnu qu'il possède une structure laminée et que les chaînes de polymère ont une orientation radiale. Vraisemblablement, les chaînes d'amylopectine irradient à partir du centre du granule d'amidon jusqu'à sa surface et les longues chaînes d'amylose se positionneraient entre elles (Figure 2.3) [Lisinska and Leszczynski, 1989; Young, 1984].

L'observation du granule d'amidon hydraté, au microscope optique en lumière polarisée et en contraste de phase (Figure 2.4), permet d'observer la croix de Malte indiquant une biréfringence positive et témoignant de l'orientation radiale des chaînes

de polymères [French, 1972]. Les granules d'amidon analysés par diffraction de rayons X fournissent un diagramme caractéristique d'un cristal dans lequel quelques anneaux d'interférence apparaissent plus ou moins clairement. L'arrangement de ces anneaux obtenus par analyse en rayons X permet d'identifier trois types de structures: A, B et C.

Un cliché de type A est généralement caractéristique des amidons de céréales, un cliché de type B est caractéristique des amidons de tubercules (B est aussi le cliché des amidons de maïs à haute teneur en amylose) et le type C correspond généralement à un mélange de cristallites de types A et B [Le Bail et al., 1995; Sair, 1967]. Les caractéristiques des structures A et B sont présentées au chapitre 3.1.3.

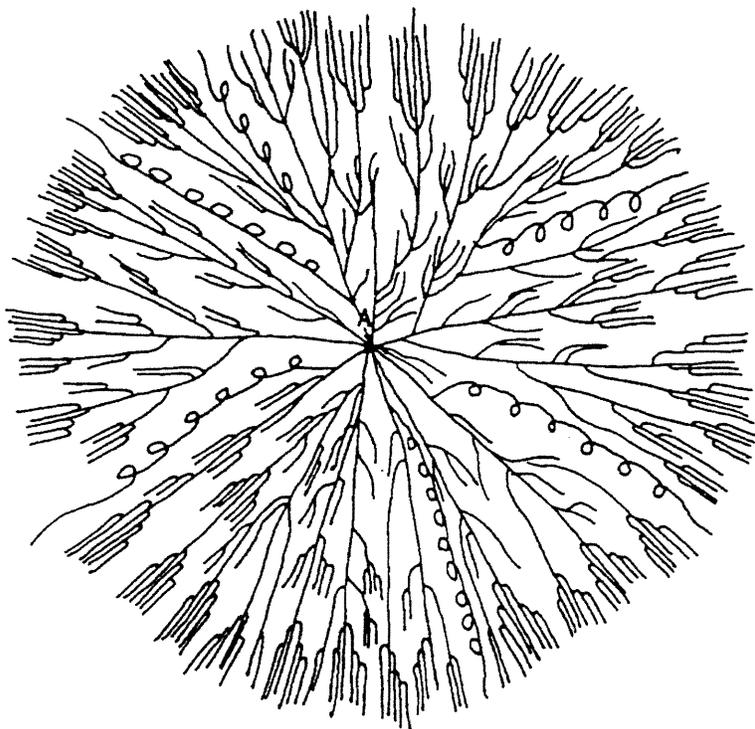


Figure 2.3: Représentation schématique d'un granule d'amidon [reproduit à partir de Lineback, 1986].

La RMN du solide (^{13}C CP/MAS) est un outil d'analyse intéressant pour caractériser la morphologie des amidons (Figure 2.5) [Gidley and Robinson, 1990; Veregin et al.,

1986]. Le déplacement des bandes pour le ^{13}C observé par RMN sur les spectres de l'amidon a été corrélé aux structures polymorphiques caractérisées par diffraction de rayons X [Sarko and Wu, 1978]. Il existe aussi une autre conformation de l'amidon : il s'agit de la forme V. Cette forme est obtenue suite à la complexation de l'amylose par un lipide (lipide contenu dans l'endosperme), un alcool (butanol, isopropanol, éthanol, etc.) ou l'iode qui peuvent se retrouver dans la structure hélicoïdale de l'amylose [Hulleman et al., 1996; Le Bail et al., 1995; Godshall and Solms, 1992; Banks and Greenwood, 1975].

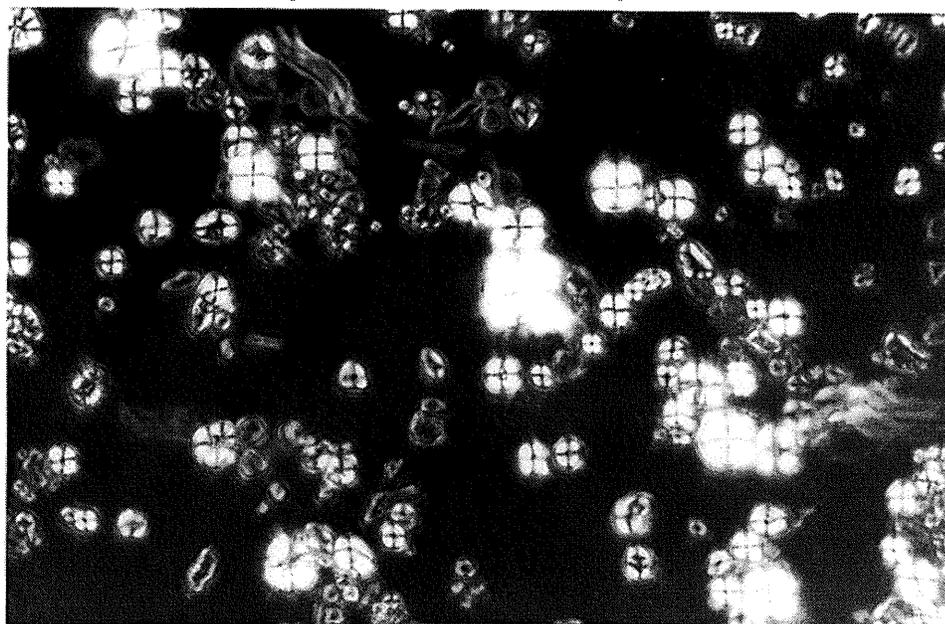


Figure 2.4: Photographie au microscope optique (400x) en contraste de phase et en lumière polarisée d'une solution aqueuse d'amidon à 1.5 %.

Cette forme peut facilement être identifiée par diffraction de rayons X [Hulleman et al., 1996; Le Bail et al., 1995], par RMN du solide (Figure 2.5) [Veregin et al., 1987] et par calorimétrie différentielle (DSC) [Biliaderis, 1991 (a), 1991(b) et 1992]. La forme V de l'amidon est généralement observée suite à un chauffage de l'amidon en solution et en présence d'acide gras à courtes chaînes ou des monoglycérides à des températures supérieures à la température de gélatinisation.

Selon toute vraisemblance, c'est lors du refroidissement de la solution d'amidon que l'amylose s'enroule autour des acides gras pour former le complexe [Colonna et Thibault, 1986; Bulpin et al., 1982]. Les propriétés de l'amidon, ainsi que les applications possibles, dépendent de ces formes cristallines et les caractéristiques intrinsèques qui leurs sont rattachées.

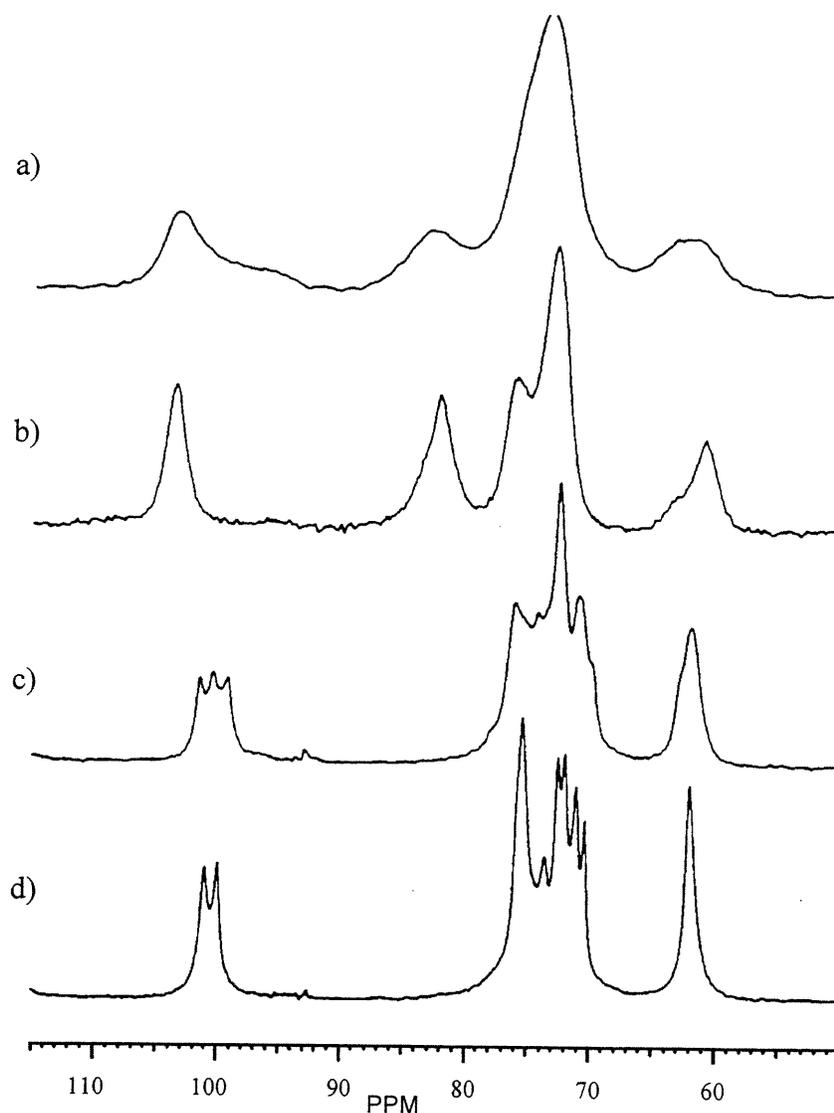


Figure 2.5: Reproduction du spectre RMN ^{13}C CP/MAS [Gidley and Robinson, 1990] pour : (a) amidon de maïs amorphe préparé par prégélatinisation suivi d'une précipitation à l'éthanol, (b) complexe type V de l'amylose avec le palmitate de sodium, (c) la forme cristalline de type A de l'amylose, et (d) la forme cristalline de type B de l'amylose.

2.3. Mécanisme de gélatinisation de l'amidon

L'utilisation de l'amidon sous forme de grain est courante dans l'industrie. Toutefois, plusieurs applications font appel aux propriétés gélifiantes de l'amidon et par conséquent, la gélatinisation de l'amidon est essentielle [Shogren and Jasberg, 1994]. La gélatinisation de l'amidon est un traitement qui modifie de façon irréversible le granule d'amidon ainsi que ses propriétés physico-chimiques. Elle consiste en un gonflement irréversible d'une suspension d'amidon dans l'eau, sous l'effet du chauffage [Fisher and Thompson, 1997; Lisinska and Leszczynski, 1989; Miles et al., 1985] ou par traitement de l'amidon par des bases fortes (Figure 2.6) à la température ambiante [Young, 1984; Sarko et al., 1964; Sullivan and Jonhson, 1964].

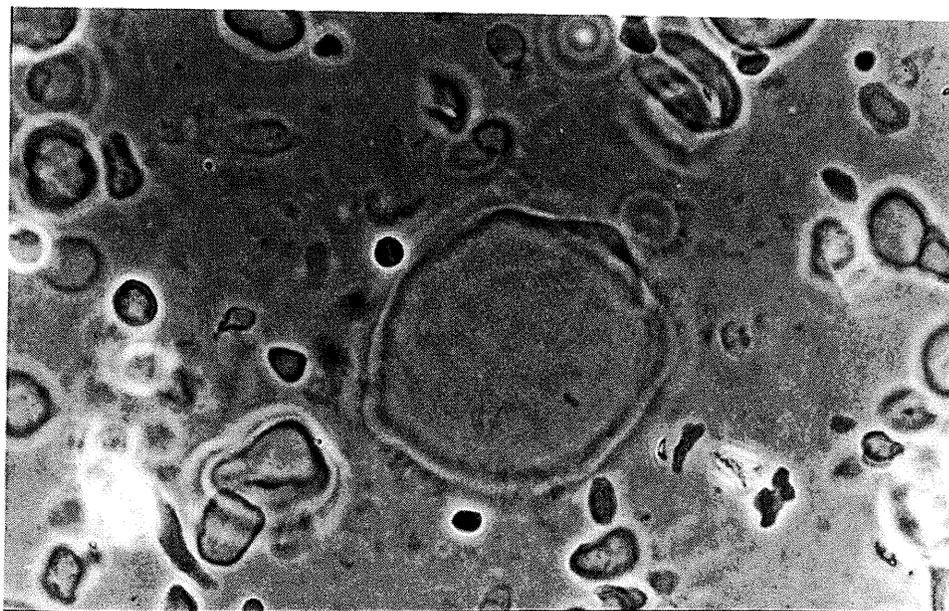


Figure 2.6: Photographie au microscope optique (400x) en contraste de phase et en lumière polarisée d'un amidon à haute teneur en amylose (Hylon VII) suite à un traitement à l'hydroxyde de sodium (0.45 N) à 50 °C.

Au départ, lorsque les grains d'amidon sont dispersés dans l'eau froide, un léger gonflement provoqué par une absorption d'eau a lieu; la diffusion de l'eau au sein de

la phase amorphe du grain d'amidon s'accompagne d'une réaction exothermique. Soumis à un chauffage en milieu aqueux, les granules d'amidon gonflent intensément. L'eau chaude diffuse dans le granule et la chaleur rompt les liens hydrogène maintenant l'intégrité de la structure du grain d'amidon [Patil, 1991; Lisinska and Leszczynski, 1989]. Au moment de la gélatinisation, tous les grains d'amidon perdent leur biréfringence (disparition des croix de Malte) et leur cristallinité. Cette transformation a lieu à différentes températures en fonction de la source de l'amidon et de la teneur en amylose (Tableau 2.1) [Patil, 1991; Lineback, 1986; Sullivan and Jonhson, 1964].

Tableau 2.1: Température de gélatinisation en fonction de la source d'amidon et la teneur en amylose.

Sources	Température de gélatinisation dans l'eau (°C)
Pomme de terre (20 % d'amylose)	56 - 68
Maïs régulier (environ 20 % amylose)	62 - 74
Maïs cireux (0 % d'amylose)	63 - 72
Maïs à haute teneur d'amylose (50 - 70 %)	70 - 93*
Blé (20 % d'amylose)	58 - 70

* La solubilisation des granules d'amidon à haute teneur en amylose s'effectue à plus de 100 °C et n'est donc pas possible à la pression atmosphérique.

En général, la température de gélatinisation d'une population de grains d'amidon peut varier de 8 à 15 °C, mais ne varie que de 1 à 2 °C pour chaque grain observé individuellement [Colonna et Thibault, 1986; Schoch and Maywald, 1956]. Les températures de gélatinisation des différents amidons peuvent être déterminées à l'aide d'un microscope chauffant de type Kofler [Schoch and Maywald, 1956].

La gélatinisation est un processus qui se déroule en deux étapes pour la plupart des amidons de céréales et légumineuses [Colonna et Thibault, 1986]. Dans la première étape, l'amylose (fraction soluble du grain d'amidon) est préférentiellement

solubilisé et diffuse hors des grains d'amidon: c'est la lixiviation. Un traitement thermique plus poussé (température supérieure à la température de gélatinisation) provoque la destruction presque complète du grain [Lisinska and Leszczynski, 1989] libérant aussi le contenu en amylopectine (Figure 2.7).

La gélatinisation est accompagnée d'une forte augmentation de la taille des grains d'amidon et de la viscosité du milieu préparé. Ainsi, ce phénomène peut être caractérisé physiquement par observation au microscope optique (Figure 2.6) ou par une mesure de la viscosité (« *Brabender Amylograph* », viscosimètre « *Corn Industries* », viscosimètre « *Scott* » et viscosimètre « *Brookfield* ») [Smith, 1962]. La modification de la morphologie de l'amidon, associée à la gélatinisation, peut aussi être révélée par la RMN, la perte de cristallinité peut être observée par diffraction de rayons X et la dissociation des grains d'amidon (phénomène endothermique) peut être quantifiée par DSC [Fisher and Thompson, 1997].

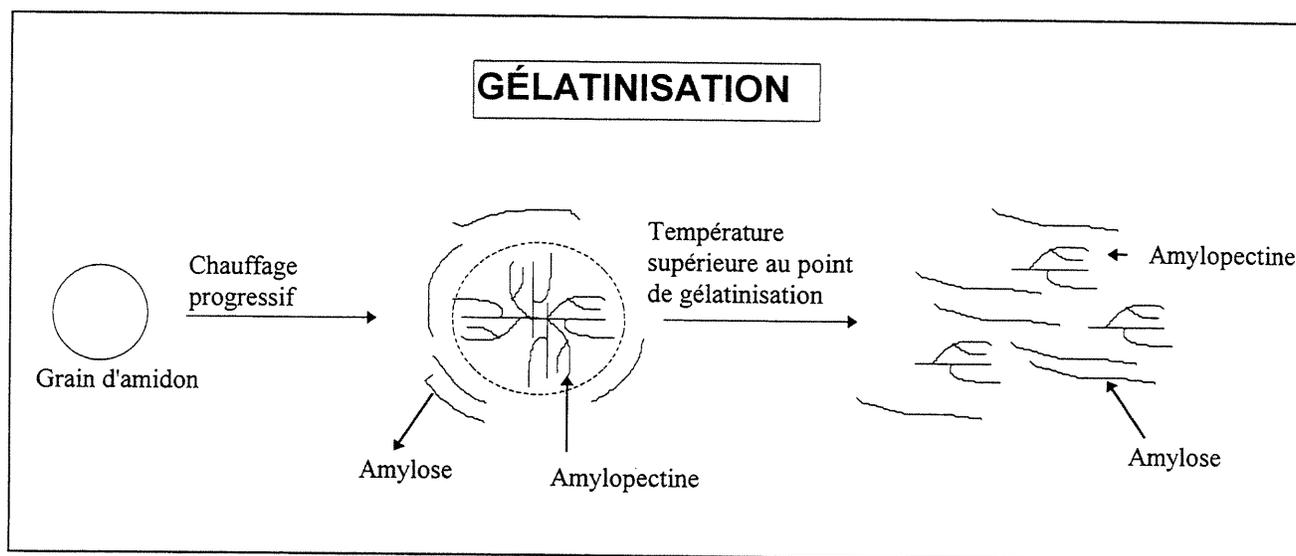


Figure 2.7: Schématisation de la gélatinisation d'un grain d'amidon par traitement thermique.

2.4. Modifications chimiques de l'amidon

L'amidon contient un très grand nombre de groupements hydroxyle. Chaque unité de glucose, constituant l'amylose et l'amylopectine, possède trois groupements

hydroxyle qui peuvent être impliqués dans une multitude de réactions chimiques conduisant à la modification des propriétés physico-chimiques de l'amidon. Plusieurs modifications de l'amidon sont possibles et les plus fréquemment rencontrées sont l'oxydation, l'estérification et l'éthérification [Rutengerg and Solarek, 1984; Van Der Bij, 1976]. Bien que les modifications chimiques de l'amidon peuvent être effectuées avec l'amidon en solution (amidon gélatinisé), généralement la dérivation de l'amidon est effectuée sur les grains afin de modifier les propriétés de gélatinisation et de cuisson. La modification de l'amidon est généralement effectuée afin de réduire la rétrogradation et la gélification, d'augmenter la capacité d'absorption d'eau, de diminuer la synérèse, d'augmenter le caractère hydrophile ou d'y introduire des substituants ioniques [Rutengerg and Solarek, 1984]. La modification de l'amidon permet d'élargir son champ d'utilisation ou d'améliorer ses propriétés d'agent de texture, d'épaississant, d'agent gélifiant, de liant et d'adhésif. Plusieurs modifications peuvent être réalisées subséquentement pour obtenir la combinaison de propriétés désirées [Wurzburg, 1986].

En général, les dérivés de l'amidon sont préparés en faisant réagir une suspension d'amidon à 35-45 % de solides à un pH de 7 à 12. L'hydroxyde de sodium et l'hydroxyde de calcium sont souvent utilisés pour maintenir un pH alcalin afin d'activer les groupes hydroxyle de l'amidon et favoriser la substitution nucléophile. Les réactions sont généralement effectuées de 20 à 60 °C et les conditions de réactions sont ajustées de façon à éviter la gélatinisation permettant ainsi de laver facilement les granules d'amidon et de les récupérer par filtration ou centrifugation. L'amidon est ensuite séché par atomisation ou sur tambour.

2.4.1. La réticulation de l'amidon

Lorsqu'une entité chimique possède deux ou plusieurs groupements fonctionnels, il est possible que cette entité chimique réagisse avec deux groupements hydroxyle provenant de glucoses différents, conduisant ainsi à l'établissement d'un lien chimique entre ces deux hydroxyles. L'introduction de ponts de réticulation produit une augmentation remarquable du poids moléculaire.

Généralement, la disposition des chaînes polymériques au sein de l'amidon favorise la réticulation intermoléculaire [Rutenberg and Solarek, 1984].

2.4.2. Les propriétés de l'amidon réticulé

La réticulation du granule d'amidon permet d'augmenter la résistance du granule à la gélatinisation en renforçant les liens hydrogène qui assurent l'intégrité du granule. À cause des difficultés inhérentes à la détermination directe du degré de réticulation, la caractérisation du degré de réticulation des amidons est basée essentiellement sur les propriétés physiques telles que la viscosité, le pouvoir gonflant, la solubilité et la résistance au cisaillement [Rutenberg and Solarek, 1984]. Pendant la cuisson, la viscosité d'une suspension d'amidon faiblement réticulé surpassera le pic de viscosité obtenu pour l'amidon non modifié. Une augmentation du degré de réticulation conduit à une diminution du pic de viscosité et tend à prévenir la chute de viscosité qui est normalement observée suite à la gélatinisation de l'amidon conventionnel. Pour un degré de réticulation intermédiaire, on assiste à la disparition du pic de viscosité et à une augmentation continue de la viscosité avec une cuisson prolongée, sans observer de gélatinisation [Rutenberg and Solarek, 1984]. Pour une réticulation très élevée (plus de 1 %), l'amidon ne peut plus être gélatinisé même à des températures de 160 °C.

On utilise de l'amidon réticulé lorsqu'une pâte d'amidon à viscosité élevée et stable est requise et particulièrement si cette pâte doit être soumise à de hautes températures, des pH bas et à des forces de cisaillement [Rutenberg and Solarek, 1984]. Ces amidons réticulés sont utilisés dans le secteur alimentaire pour la préparation de vinaigrette à salade, d'aliments préparés en conserves tels que les soupes, les sauces, la nourriture pour bébé, les poudings, le maïs en crème, les préparations fruitées à tarte et plusieurs autres produits [Rutenberg and Solarek, 1984; Rubens, 1980]. On retrouve aussi les amidons réticulés dans l'industrie du textile, dans l'industrie papetière, dans l'industrie chimique (résines échangeuses d'ions, chromatographie d'exclusion [Serban et al., 1976 (a), 1976 (b) et 1975], agent

anti-reprécipitation [Lambrechts, 1986]), en agriculture (agent de libération contrôlée d'herbicides et de pesticides) [Wing et al., 1993 et 1987; Trimnell et al., 1985 et 1982; Shasha et al., 1984 et 1981; Baur, 1980] et dans le domaine pharmaceutique. Les applications de l'amidon et de ses dérivés dans le domaine pharmaceutique seront présentées de façon plus détaillée au chapitre 2.5.

2.4.3. Les agents de réticulation

Il existe un grand nombre de molécules pouvant être utilisées comme agents de réticulation [Wurzburg, 1986; Rutenberg and Solarek, 1984]. Parmi celles-ci, les plus fréquemment utilisées et permises dans le domaine alimentaire sont le trimétaphosphate trisodique et l'oxychlorure de phosphore (produisant un di-amidon phosphate), un anhydride mixte obtenu suite à la réaction de l'acide adipique et l'anhydride acétique (produisant un di-amidon adipate) et l'épichlorhydrine (produisant un di-amidon glycérique) [Patil, 1991; Solarek, 1986 ; Wurzburg, 1986; Rutenberg and Solarek, 1984, Hamilton and Paschall, 1967]. Parmi ces quatre agents de réticulation, l'épichlorhydrine serait la plus efficace pour inhiber la gélatinisation du granule d'amidon et empêcher la lixiviation de l'amylose [Rutenberg and Solarek, 1984]. Quoique l'utilisation de l'épichlorhydrine soit encore permise par la FDA [Code of Federal Regulations, 1992] et que l'épichlorhydrine soit encore utilisée comme agent de réticulation de l'amidon (i.e. préparation de l'ABSORBO[®] HP utilisé comme poudre pour les gants chirurgicaux), l'épichlorhydrine est de plus en plus mise de côté par les industries alimentaires [Orthofer, 1987; Wurzburg, 1986 ; Rubens, 1980] et pharmaceutiques [Dumoulin, 1998]. Le remplacement de l'épichlorhydrine par d'autres agents de réticulation (i.e. trimétaphosphate trisodique) s'effectue progressivement pour des raisons de santé et sécurité au travail ainsi que pour des raisons reliées à l'acceptabilité de l'épichlorhydrine (i.e. l'utilisation de l'épichlorhydrine pour la préparation de produit alimentaire n'est plus permise en Europe par les instances réglementaires [Boursier, 1994]).

2.4.4. Réaction de l'amidon avec l'épichlorhydrine

La réaction des polysaccharides avec l'épichlorhydrine est connue depuis près de 77 ans [Kuniak and Marchessault, 1972]. La réaction de l'amidon avec l'épichlorhydrine s'effectue généralement dans un milieu alcalin et à une température pouvant varier de 20 à 50 °C. Le temps de réaction peut varier de 0.5 à 40 heures et doit être ajusté en fonction des paramètres de réaction choisis (température, concentrations en hydroxyde de sodium et en amidon). Une étude de rendement et de vitesse de réaction effectuée par Hamerstrand et al. a démontré que, dans une solution à 1 % de NaOH à 25 °C, lorsqu'on ajoute 0.024 à 1.14 % d'épichlorhydrine (basé sur le poids sec d'amidon) à de l'amidon, il ne faut pas moins de 18 heures de réaction pour que 80 % de la quantité d'épichlorhydrine ait réagi avec l'amidon [Hamerstrand et al., 1960]. De plus, en fonction des conditions choisies, de 5 à 25 % de la quantité d'épichlorhydrine ajoutée est fixée sur l'amidon comme substituant glycérique monoéther (Figure 2.8.) [Kuniak and Marchessault, 1972]. Les meilleurs rendements de réticulation ont lieu lorsque la concentration d'amidon est élevée et que le rapport molaire de NaOH/amidon est entre 0.5 et 1.0. Une température de réaction élevée augmente le rendement de la réticulation, mais diminue l'homogénéité de la réaction au sein de l'amidon [Kuniak and Marchessault, 1972].

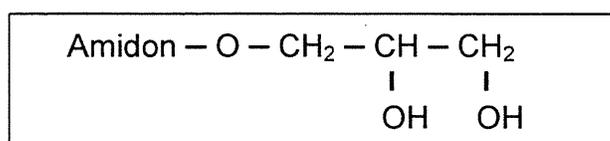


Figure 2.8 : Schématisation d'une réaction secondaire de l'épichlorhydrine et l'amidon: formation d'un amidon glycérique monoéther.

La réaction de l'amidon avec l'épichlorhydrine en milieu alcalin s'effectuerait en trois étapes (Figure 2.9) [Roberts, 1965]. La réaction débiterait par l'ouverture du cycle époxy de l'épichlorhydrine et d'une attaque nucléophile effectuée par le groupement alkoxide de l'amidon. Cette attaque nucléophile est suivie du départ du

Cette observation suggère que le mécanisme de réaction de l'épichlorhydrine s'effectue d'une façon similaire à celui observé lors de l'éthérisation de l'amidon par l'oxyde de propylène et l'oxyde d'éthylène. On suppose que la substitution nucléophile s'effectue d'abord par l'attaque du côté du groupement époxy de l'épichlorhydrine et que la substitution nucléophile directe du côté du chlore est beaucoup moins importante [Rutenberg and Solarek, 1984].

2.5. Le Rôle de l'amidon et de ses dérivés dans l'industrie pharmaceutique

L'amidon et ses dérivés se retrouvent dans une multitude d'applications para-pharmaceutiques et pharmaceutiques. Ainsi, l'amidon réticulé peut se retrouver dans les contenants sous pression de fixatif pour cheveux et dans des shampooings [Solarek, 1986], dans la préparation d'anti-sudorifiques et comme poudre pour gants chirurgicaux [Wurzburg, 1986]. De plus, l'amidon phosphorylé marqué au radionuclide ^{99}Tc peut servir comme agent diagnostique et l'utilisation de films plastifiés à base d'amidon phosphorylé pour le traitement de blessures au niveau de la peau est aussi rapportée [Hartman et al., 1977]. Des nouveaux produits commerciaux à base d'amidon destinés à l'industrie para-pharmaceutique (CAPSUL[®], N-CREAMER[®]-46, N-LOK[®] (agents encapsulant); DRY-FLO[®] (agent dessicant); NATIONAL[®] 77-1760 (agent épaississant)) sont présentées au site Web de National Starch (www.nationalstarch.com).

Dans l'industrie pharmaceutique, l'amidon est surtout utilisé en formulation pour la préparation de formes pharmaceutiques solides. L'amidon est reconnu comme un diluant naturel et peut être utilisé dans la préparation de comprimés et de capsules. Toutefois, à cause du manque de compressibilité de l'amidon natif, la dureté des comprimés contenant de l'amidon natif comme agent diluant est insuffisante [Visavarunroj and Remon, 1992; Sheth et al., 1980]. L'amidon natif peut aussi être utilisé comme agent désintégrant, mais plusieurs auteurs estiment son pouvoir désintégrant limité (nécessité d'ajouter jusqu'à 20 % p/p) [Trubiano and Kasica, 1985, Trubiano, 1983, Nichols and Short, 1970; Short and Verbanac, 1971].

L'amidon sous forme de pâte (gélatinisé) est encore de nos jours un des agents liants les plus fréquemment utilisés en granulation humide [Visavarunroj and Remon, 1992; Gore, 1991]. L'amidon pré-gélatinisé a aussi été utilisé dans la formulation de comprimés à libération contrôlée [Nakano et al., 1987]. Toutefois, les comprimés fabriqués à partir d'amidon pré-gélatinisé et testés *in vitro* se fissurent sur le sens longitudinal du comprimé pendant la dissolution, causant ainsi une accélération brusque du taux de libération [Herman and Remon, 1989].

L'utilisation de l'amidon natif est assez limitée et il est nécessaire de procéder à la modification de l'amidon natif par traitement physique, chimique ou enzymatique pour augmenter sa versatilité et ses performances.

Wai-Chiu propose un agent liant-désintégrant obtenu par hydrolyse de l'amidon gélatinisé par la pullulanase ; ses propriétés liantes et désintégrant sont supérieures à l'amidon natif [Wai-Chiu, 1991]. Cet amidon modifié contient au minimum 20 % « d'amylose à chaîne courte » et les propriétés liantes et désintégrant s'améliorent avec l'augmentation de la quantité « d'amylose à courte chaîne produite » suite à l'hydrolyse de l'amylopectine. Arends-Scholte et al. proposent également un agent désintégrant à base de granule d'amidon traité à la pullulanase [Arends-Scholte et al., 1995].

Te Wierik et al. décrivent la fabrication d'un nouvel agent liant à partir d'un amidon de pommes de terre gélatinisé, hydrolysé avec la pullulanase, puis partiellement hydrolysé avec l' α -amylase [Te Wierik et al., 1996]. Toutefois, la production de cet amidon modifié, possédant une grande surface spécifique et d'excellentes propriétés liantes, est conditionnelle à la déshydratation de l'amidon à l'aide d'un solvant organique ou par lyophilisation.

Plusieurs études traitent des propriétés liantes et désintégrant de dérivés d'amidon. Par exemple, Visavarunroj et Remon ont étudié le pouvoir désintégrant de quelques dérivés d'amidon en comparaison avec quelques superdésintégrant disponibles commercialement (Ac-Di-Sol[®], Explotab[®] et Polyplasdone XL[®]). Selon eux, l'amidon pré-gélatinisé et réticulé possède un pouvoir désintégrant supérieur à l'amidon qui a été pré-gélatinisé seulement. De plus, le pouvoir désintégrant de

l'amidon de maïs cireux (0 % d'amylose) pré-gélatinisé et réticulé serait supérieur à celui de l'amidon qui a été réticulé seulement. Ils concluent leur étude en indiquant que le pouvoir désintégrant des dérivés d'amidon étudiés n'est pas supérieur aux super désintégrants [Visavarungroj and Remon, 1990]. Dans une autre étude, il apparaît que les propriétés liantes de l'amidon et de l'amidon réticulé sont grandement améliorées lorsque l'amidon est pré-gélatinisé [Visavarungroj et al., 1990].

Le rôle de l'amidon et de ses dérivés comme excipient pour la libération contrôlée a aussi été l'objet de plusieurs publications et brevets. Herman et al. ont étudié l'effet de plusieurs paramètres sur les propriétés de libération de l'amidon pré-gélatinisé [Herman et al., 1989]. Ils concluent que le rapport amylose/amylopectine est le facteur le plus important qui influence les caractéristiques de gonflement des comprimés et la vitesse de libération du médicament. Ils rapportent que l'amidon de maïs (95-100 % d'amylopectine) forme un gel cohérent suite à l'hydratation des comprimés et permet de freiner, de façon très significative, la sortie du principe actif. Toutefois, la barrière gélifiante n'est pas compacte et est très fragile. L'érosion de cette couche hydratée, qui aurait normalement lieu *in vivo*, causerait une accélération considérable de la vitesse de libération du principe actif. Ils indiquent aussi que l'amidon à haute teneur en amylose ne forme pas un gel cohérent à la surface des comprimés et que cet amidon n'est pas adéquat comme polymère pour la fabrication de comprimés à libération contrôlée. Toutefois, Milojevic et al. décrivent la préparation d'un enrobage entérique à base d'amylose et d'éthylcellulose, résistant à l' α -amylase, pour la libération de médicament au niveau du gros intestin [Milojevic et al., 1995]. Ils indiquent cependant que l'amylose seul ne peut pas être utilisé et que le mélange d'excipient destiné à l'enrobage doit contenir un minimum de 60 % d'éthylcellulose pour être efficace. Te Wierik et al. décrivent la préparation d'un amylose métastable comme excipient pour la libération contrôlée de médicament [Te Wierik et al., 1993 (a)]. L'amylose métastable est obtenu suite à la déshydratation à l'aide de l'éthanol du complexe de l'amylose V[®] (AVEBE) avec le 2-méthyl, 1-butanol.

L'amidon pré-gélatinisé et réticulé peut également être utilisé comme excipient pour la libération contrôlée. Kost et Shefer décrivent l'utilisation de l'amidon

prégélatinisé et réticulé ioniquement à l'aide de calcium (Ca^{2+}) pour l'emprisonnement et la libération contrôlée de médicament [Kost and Shefer, 1990]. La libération du principe actif à partir des comprimés à base de cet amidon modifié est grandement affectée par l' α -amylase. Van Aerde et Remon ont fait l'évaluation de quelques amidons modifiés dans la fabrication de matrices hydrophiles [Van Aerde and Remon, 1988]. Des essais de libération de la théophylline à partir de matrices à base d'amidon prégélatinisé et réticulé au trimétaphosphate de sodium ont démontré qu'une augmentation du degré de réticulation de l'amidon cause une augmentation de la vitesse de libération du médicament. Cartilier et al. décrivent la préparation d'un amidon à haute teneur en amylose prégélatinisé et substitué à l'aide du 1,2-époxypropanol en milieu alcalin, puis déshydraté par traitement à l'acétone comme nouvelle matrice hydrophile [Cartilier et al., 1997 (b)].

Plusieurs auteurs ont tenté de modifier enzymatiquement l'amidon afin d'obtenir un meilleur excipient utilisable pour la formulation de matrices hydrophiles. Te Wierik et al. décrivent le traitement de l'amylopectine par débranchement enzymatique de l'amidon de maïs cireux (100% amylopectine) à l'aide de la pullulanase; cet excipient posséderait des propriétés de libération nettement supérieures à l'amidon prégélatinisé [Te Wierik et al., 1993 (b)]. Te Wierik et al. décrivent également la préparation d'amidons à courtes chaînes linéaires, caractérisées par une grande surface spécifique, comme nouvelle génération d'excipient pour la libération contrôlée [Te Wierik et al., 1997]. Ces amidons sont obtenus par hydrolyse enzymatique (par la pullulanase et partiellement par l' α -amylase) de l'amidon de pommes de terre prégélatinisé, suivi d'un séchage par déshydratation aux solvants organiques (éthanol, acétone) ou par lyophilisation de l'amidon rétrogradé. Les auteurs indiquent que les propriétés de libération s'améliorent avec la surface spécifique de l'amidon qui est obtenu. Ils considèrent que cette grande surface spécifique est conditionnelle au traitement des amidons à courtes chaînes linéaires par les solvants organiques ou par lyophilisation.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 3.0.: PROPRIÉTÉS PARTICULIÈRES DE L'AMYLOSE

3.1. Le rôle de l'amylose dans la rétrogradation et la gélification de l'amidon

L'intensité du gonflement, de la rupture du grain d'amidon et le taux de lixiviation (libération) de l'amylose dépendent de la source d'amidon, de la température, de la présence de sel, de l'agitation ou de la force de cisaillement présente pendant le chauffage ainsi que de la concentration en amidon. Pendant le refroidissement d'une suspension (ou solution) d'amidon gélatinisé, celle-ci acquiert, selon la concentration en amidon et la longueur des chaînes d'amylose, la consistance d'une pâte peu rigide ou celle d'un gel [Clark et al., 1989 ; Ring, 1985]. Généralement, pour une concentration supérieure à 6 % d'amidon, un réseau tridimensionnel est obtenu, dans lequel des vestiges de granules d'amidon de grande dimension (composé principalement d'amylopectine) sont emprisonnés dans une matrice continue formée d'amylose [Morris, 1990]. Ce composé complexe de polymères donne naissance à un gel possédant des propriétés viscoélastiques où les associations moléculaires, impliquant principalement des liaisons hydrogène entre les chaînes, sont de nature physique et non covalentes [Biliaderis, 1991 (a)]. Le refroidissement d'une solution d'amidon de faible concentration (contenant moins de 1.5 % p/p d'amylose) mène généralement à la formation d'un précipité. La précipitation et surtout la formation de gel, suite à la rétrogradation de l'amylose et de l'amylopectine à partir de solutions ou de suspensions d'amidon, sont considérablement importantes pour l'industrie et rendent possibles plusieurs applications [Mestres et al., 1988].

3.1.1. Phénomènes généraux liés à la gélification

Un gel est considéré comme un système biphasique constitué par un réseau macromoléculaire tridimensionnel solide retenant la phase liquide entre ses mailles. Il provient d'un phénomène de coopérativité nécessitant une régularité stéréochimique du polymère ou des segments assez étendus du polymère pour permettre le rapprochement des chaînes. Les homopolymères possèdent des zones de jonction très étendues et mènent à la formation de gels rigides et cassants [Colonna et

Thibault, 1986]. Par exemple, Clark et al. rapportent qu'une précipitation de l'amylose se produit lorsque le degré de polymérisation est inférieur à 100, alors qu'une gélification et une formation d'un réseau cohésif a lieu lorsque le degré de polymérisation de l'amylose est supérieur à 250 [Clark et al., 1989]. La présence de quelques éléments introduisant une irrégularité structurale au sein de l'homopolymère génère un gel plus élastique, puisqu'une chaîne du polymère pourra posséder des zones de jonction communes avec plusieurs autres partenaires, ce qui assurera la cohésion du réseau.

Parce que l'amylose est non ramifié, il est généralement accepté que la gélification initiale de l'amidon dépende essentiellement de la capacité de l'amylose à s'associer avec une autre molécule d'amylose pour former un réseau [Morris, 1990; Del Rosario and Pontiveros, 1983]. La gélification d'une solution d'amylose s'effectue suite à une séparation de phase (phénomène rapide) et une cristallisation de l'amylose au sein de la phase riche en polymère [Doublier et al., 1992; Biliaderis, 1991 (a); Morris, 1990; Mestres et al., 1988; Miles et al., 1985]. L'état de gel ne peut pas être défini par un équilibre puisqu'il évolue au cours du temps [Biliaderis, 1991 (a)]. Cette instabilité, ainsi que la réversibilité de la plupart des gels, permettent de conclure que les forces capables d'associer les chaînes entre elles disposent d'assez de liberté pour permettre des évolutions. En fait, l'état gel apparaît quand suffisamment de chaînes se sont associées pour former un réseau, d'abord élastique (phénomène initié par l'association des chaînes d'amylose - Figure 3.1); puis au fur et à mesure que les chaînes s'organisent entre elles, le gel devient de plus en plus rigide donnant lieu au phénomène de rétrogradation (cristallisation de l'amylopectine) et finalement de synérèse (le gel se contracte et exsude une partie de la phase liquide) [Biliaderis, 1991 (a)]. On peut donc conclure que le phénomène de gélification est le résultat d'une compétition entre les interactions polymère - polymère dans les zones d'association et les interactions polymère - eau dans les régions non organisées. La rétrogradation de l'amylose peut être considérée comme une cristallisation à l'intérieur d'une matrice amorphe (un gel d'amidon est considéré comme un système polymérique partiellement cristallin).

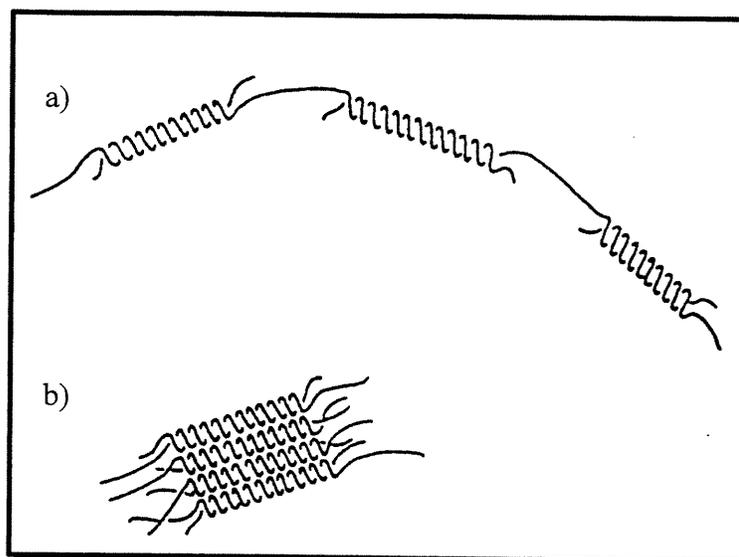


Figure 3.1: Représentation schématique de la formation et association des doubles hélices: (a) formation de doubles d'hélices et élongation de la chaîne, (b) association latérale des zones sous forme d'hélices [Morris, 1990].

En général, la cristallisation s'effectue en trois étapes [Wunderlich, 1976]: i) la nucléation qui consiste essentiellement en la formation de cristaux minuscules; ii) la propagation qui consiste en la croissance des cristaux formés lors de la nucléation et iii) la maturation qui consiste en une croissance continue et un perfectionnement des cristaux. La vitesse et l'ampleur de ces différents processus dépendent de la température (Figure 3.2): la vitesse de nucléation est nulle à la température de fusion des cristaux (T_m); la nucléation débute lors du refroidissement de la solution et son ampleur augmente avec la diminution de la température; pour des températures sous la température de transition vitreuse (T_g), la nucléation est pratiquement inexistante et la propagation est nulle puisque la diffusion n'est plus possible à ces températures. Pour des températures supérieures au T_g , la diffusion et la propagation sont possibles et elles augmentent de concert avec la température. Pour des raisons évidentes, la propagation est nulle pour des températures supérieures à T_m . La vitesse de maturation dépend aussi de la température et s'effectuerait d'une façon similaire à la propagation [Wunderlich, 1976].

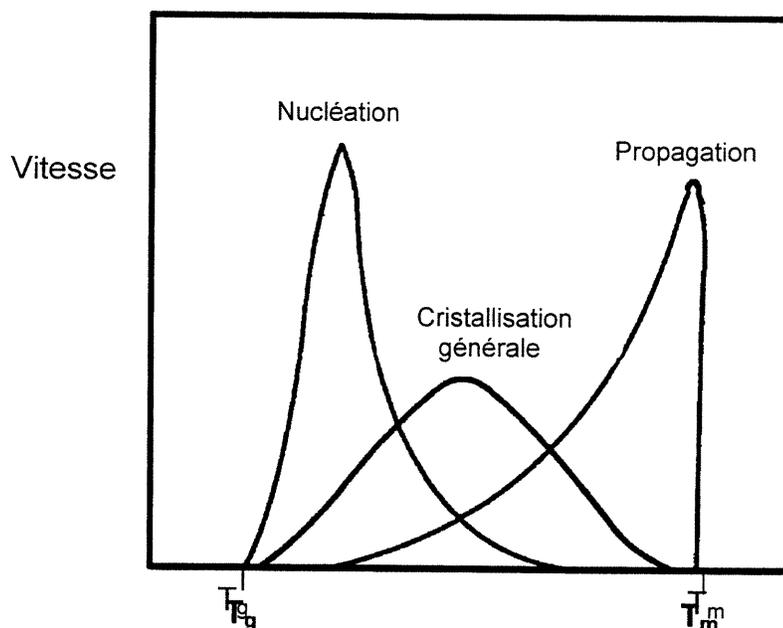


Figure 3.2: Dépendance des vitesses de nucléation, de propagation et de la vitesse de cristallisation globale d'un système polymérique partiellement cristallin vis-à-vis de la température [Eerlingen et al., 1993].

La vitesse de cristallisation globale dépend principalement des vitesses de nucléation et de propagation. Pour un système polymérique partiellement cristallin, la cristallisation ne peut avoir lieu qu'à l'état caoutchouteux, c'est-à-dire à des températures comprises entre le T_m et T_g [Levine and Slade, 1988]. Par exemple, la cristallisation d'un gel d'amidon contenant 27 % p/p d'eau (caractérisé par une morphologie de type B), possédant un T_g d'environ $-5\text{ }^\circ\text{C}$ et un T_m d'environ $150\text{ }^\circ\text{C}$, ne sera possible que si la solution est placée entre $-5\text{ }^\circ\text{C}$ et $150\text{ }^\circ\text{C}$.

Plusieurs facteurs, autres que la température, peuvent aussi influencer l'association des chaînes d'amylose. Parmi ces facteurs, on retrouve la concentration, la longueur des chaînes, la température finale atteinte suivant la rétrogradation, la vitesse de refroidissement, le pH et la présence d'un agent complexant [Sievert and Wursch, 1993].

Même si, de façon générale, on considère que le refroidissement d'une solution ayant une forte concentration d'amylose mène inconditionnellement à la

formation d'un gel, il est aussi possible d'obtenir un précipité. Doublier et al. décrivent la préparation d'un précipité d'amylose à partir de solutions contenant jusqu'à 12 % d'amylose [Doublier et al., 1992]. Un amylose très cristallin est produit suite à un chauffage d'une solution d'amylose jusqu'à 172 °C par immersion dans un bain d'huile, suivi d'un refroidissement à une température de 2 à 45 °C. Ce phénomène serait possible parce qu'un chauffage à plus de 172 °C mène à une fusion complète de tous les cristaux d'amylose. La formation de réseau (gel) lors du refroidissement d'une solution d'amylose devrait être induite par la présence d'un grand nombre de noyaux qui n'ont pas fondu lors du chauffage (températures inférieures à 172 °C). Ces noyaux seraient responsables de la formation rapide d'agrégats lors du refroidissement et, du fait que cette cristallisation est rapide, elle peut mener à la participation des chaînes d'amylose dans plusieurs agrégats résultant en la formation d'un gel. Par conséquent, la formation du gel inhibe la progression de la cristallisation de l'amylose.

D'un autre côté, il est aussi possible de figer l'amylose sous une structure amorphe en refroidissant très rapidement la solution d'amylose sous son T_g ou en la déshydratant par un procédé très rapide (Figure 3.3) [Biliaderis, 1991 (a); Morris, 1990]. Il est intéressant de noter le fait qu'un produit qui a été figé sous une forme amorphe suite à un séchage rapide (i.e. atomisation), subit une cristallisation lorsqu'il est remis en présence d'une quantité suffisante d'eau (l'eau joue le rôle de plastifiant) et à une température supérieure au T_g .

Sievert et Wursch ont aussi démontré que lors du refroidissement d'une solution d'amylose en présence de la L- α -lysophosphatidylcholine (LPC), le phénomène de complexation domine sur la formation de doubles hélices d'amylose et constitue donc une autre façon d'éviter la formation d'un gel cohérent [Sievert and Wursch, 1993].

La réticulation de l'amylose peut aussi être utilisée pour diminuer la gélification et la rétrogradation de l'amylose [Patil, 1991]. La réticulation causerait une diminution de la mobilité des segments de chaînes interconnectées dans les régions amorphes et conduirait à une augmentation du T_g [Slade and Levine, 1987].

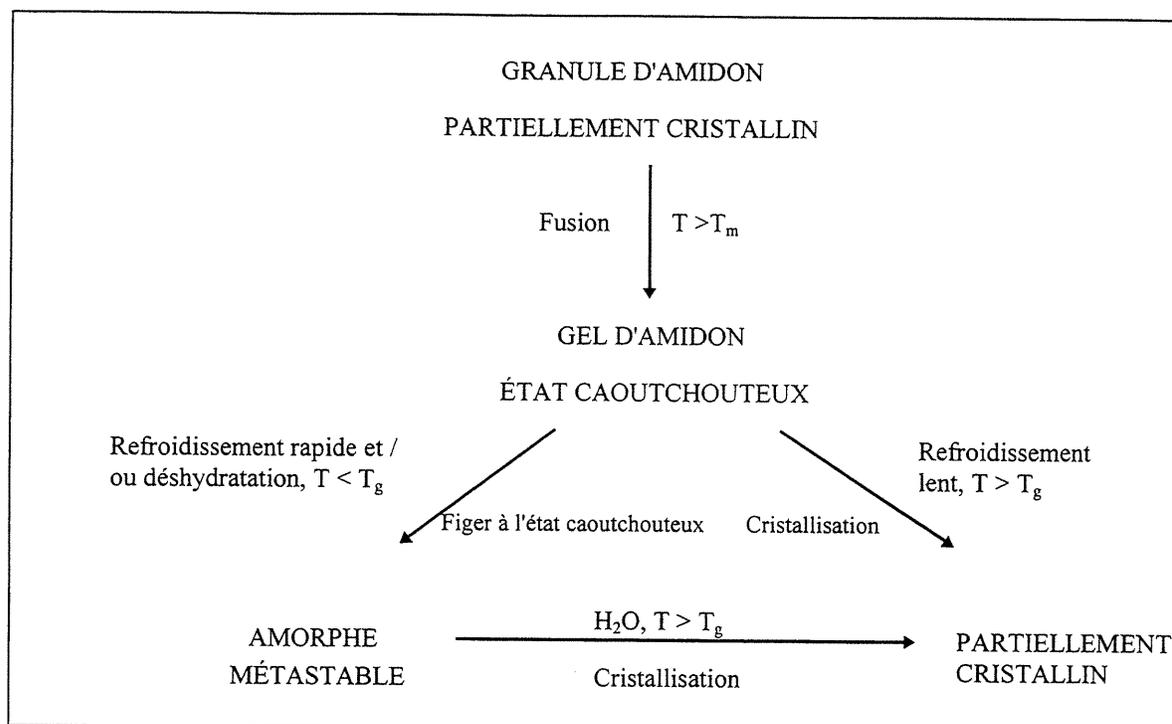


Figure 3.3: Représentation schématique de la transformation des systèmes à base d'amidon, révélée par DSC et diffraction de rayons X. Tous les changements d'état sont sous la dépendance du T_g et donc de la température d'entreposage et de l'importance du rôle de l'eau comme plastifiant dans la phase métastable amorphe ou partiellement cristalline [adaptation d'après Biliaderis, 1991 (a)].

3.1.2. Le rôle plastifiant de l'eau

Plusieurs propriétés de l'amidon peuvent être affectées par son interaction avec l'eau. Lors de l'absorption d'eau, les propriétés de l'amidon changent et un des effets bien connus est la diminution de la température de transition vitreuse due au rôle plastifiant de l'eau [Slade and Levine, 1989]. La rétrogradation et la susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique sont aussi grandement affectées par la teneur en eau [Roulet et al., 1988; Mugnier and Jung, 1985]. Malgré le rôle capital de l'eau dans le comportement de l'amidon, la thermodynamique d'interaction et la nature de l'eau dans l'amidon ne sont pas encore bien comprises. Une certaine quantité d'eau vraisemblablement liée fortement aux molécules d'amidon par liens hydrogène serait

responsable de l'absorption rapide de l'eau. L'eau liée se comporterait d'une façon différente de l'eau libre et le concept d'eau liée est souvent utilisé pour expliquer le comportement de relaxation des systèmes d'amidon en solution [Li et al., 1996].

Bien que l'étude calorimétrique différentielle des phénomènes de gélatinisation et de rétrogradation ne soit pas un des objectifs de ce travail, les concepts fondamentaux qui en découlent sont indispensables pour tenter d'expliquer le phénomène de gélification des comprimés à base d'amylose réticulé, qui rend possible le contrôle de libération de médicament. Le rôle de l'eau comme plastifiant est bien illustré par l'analyse calorimétrique différentielle. Cette technique permet d'étudier les transitions des systèmes eau-amidon sur une grande plage de températures et de teneurs en humidité. Un schéma représentatif du thermogramme obtenu lors du chauffage d'un amidon conventionnel est présenté à la Figure 3.4 [Biliaderis, 1991 (b)]. Les endothermes M_1 et M_2 représentent la désorganisation irréversible de la structure cristalline du granule d'amidon (gélatinisation). Les deux autres températures élevées de transition M_3 et M_4 sont réversibles et sont attribuables à la formation de complexes amylose-lipides; les amidons délipidés ou contenant moins de 0.1 % p/p de lipides ne présentent pas d'endotherme M_3 et M_4 [Biliaderis, 1991 (b)]. L'influence du contenu en eau sur l'apparence des deux endothermes M_1 et M_2 obtenus pour l'amidon de riz cireux est présentée à la Figure 3.5 [Biliaderis, 1992]. En présence d'un excès d'eau, un seul endotherme est observé. Lorsque le rapport amidon/eau augmente, le second endotherme fait son apparition à une température plus élevée et devient plus prédominant. Il est à remarquer que la température de transition pour le premier pic demeure constante, mais que la température de transition du deuxième endotherme se déplace vers des températures plus élevées lorsque la teneur en eau diminue.

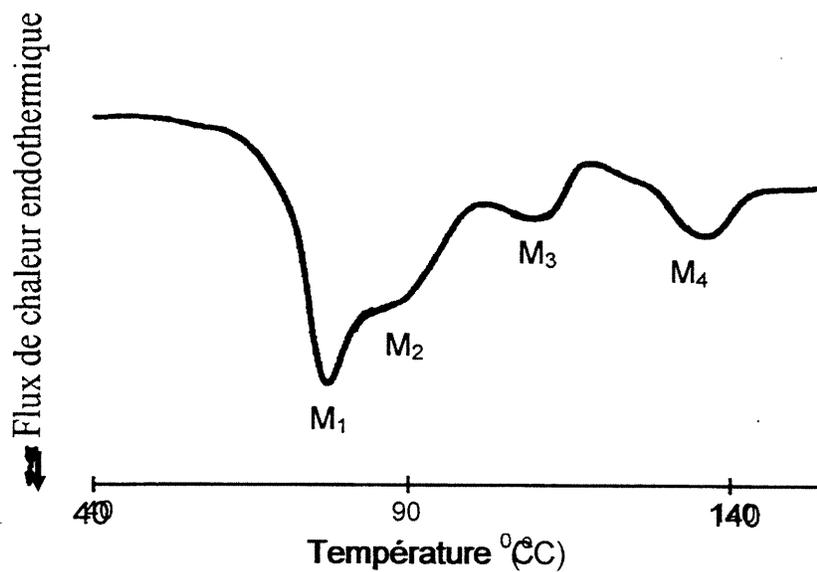


Figure 3.4: Thermogramme classique obtenu pour une suspension d'amidon de riz (50 % p/p) contenant 22 % d'amylose. La vitesse de chauffage est de 10 °C /min. [Biliaderis, 1991 (b)].

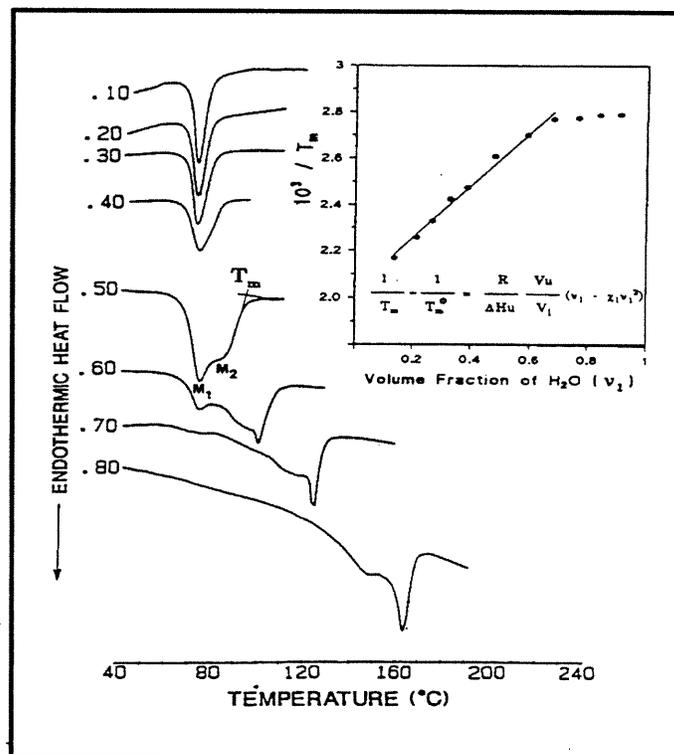


Figure 3.5: Thermogrammes de l'amidon de riz cireux contenant différentes fractions volumiques d'eau [Biliaderis, 1992].

Lelièvre a proposé d'appliquer la théorie de Flory - Huggins [Flory, 1953] à ce phénomène [Lelièvre, 1973]. Par la suite, plusieurs autres auteurs ont proposé de faire l'étude de ce phénomène à l'aide de cette équation (3.1) [Biliaderis, 1992 ; Donovan et al., 1983]:

$$(1/T_m - 1/T_m^0) = (R/\Delta H_u) (V_u/V_f) (v_1 - x_1 v_1^2) \quad \text{équation 3.1}$$

où R est la constante des gaz ; ΔH_u est l'enthalpie de fusion par mole d'unité répétitive de polymère cristallin; V_u et V_f sont les volumes molaires des unités répétitives du polymère et du diluant; x_1 est le paramètre de Flory-Huggins représentant l'intracation du polymère avec le diluant; T_m est le point de fusion ($^{\circ}\text{K}$) du mélange polymère - diluant (limite maximale de température enregistrée sur l'endotherme); v_1 est la fraction volumique du diluant et T_m^0 est la température de fusion des cristaux les plus parfaits du polymère non dilué. Cette théorie, basée sur l'équilibre thermodynamique, décrit la diminution de la température de fusion du polymère à l'équilibre T_m° à une nouvelle température de transition T_m en fonction de la fraction volumique d'eau v_1 (rapport du volume d'eau / [volume total de l'amidon + eau]) [Biliaderis, 1992]. Cette théorie a permis d'établir que pour des fractions en eau inférieures à 0.7, le paramètre d'interaction de Flory (x_1) est presque nul et qu'il existe une relation linéaire entre v_1 et $1/T_m$. L'application de cette théorie a été remise en question par Slade et Levine parce que les conditions d'équilibre ne sont pas rencontrées pendant la gélatinisation [Slade and Levine, 1987]. Néanmoins, plusieurs auteurs continuent de considérer que l'analyse basée sur la théorie de Flory est très utile surtout pour comparer la stabilité thermique des amidons et estimer le T_m apparent en fonction du taux d'humidité de ces amidons [Biliaderis, 1992].

La rétrogradation de l'amidon est un phénomène exothermique et la calorimétrie permet de suivre le développement progressif de structures ordonnées dans les gels d'amidon [Biliaderis, 1992]. Elle peut, entre autres, renseigner sur le

degré de rassissement des gels ou du pain en fonction de l'ampleur de l'endotherme observé. Dans le cas du rassissement, la transition est attribuable à la recristallisation des sections de chaînes externes de l'amylopectine. Hosoney et al. ont examiné l'effet du contenu en eau sur la cinétique de cristallisation de l'amidon par analyse thermomécanique; l'endotherme maximal est obtenu pour des teneurs en eau de 40 à 50 % [Hosoney et al., 1986]. Ils rapportent également que la recristallisation ne s'effectue pas lorsque la teneur en eau est inférieure à 20 %, vraisemblablement à cause du T_g qui est trop élevé pour ces systèmes. Yuryev et al. ont démontré que l'état phasique des gels d'amidon formés à partir d'un mélange d'amylose et d'amylopectine dépend aussi du contenu en eau [Yuryev et al., 1995]. Pour des teneurs en eau supérieures à 70 % p/p, les gels obtenus étaient biphasiques (immiscibilité entre l'amylose et l'amylopectine) alors que pour des teneurs en eau comprises entre 15 et 40 %, les gels étaient monophasiques.

3.1.3. Modèles moléculaires proposés pour l'amylose rétrogradé

Plusieurs modèles moléculaires ont été proposés au cours des 50 dernières années pour représenter la structure de l'amylose sous une forme associée. Les modèles récents [Imberty et al., 1988 (a), 1988 (b)], reprenant les informations cristallographiques déjà connues (clichés de diffraction de fibres) [Wu and Sarko, 1978 (a), 1978 (b)], enrichies par l'analyse par diffraction électronique de monocristaux et par les dernières données de diffraction de rayons X proposent un arrangement parallèle de doubles hélices gauches à brins parallèles (Figure 3.6) [Zobel, 1994]. Chaque double hélice comporte 2 x 6 unités de glucose par tour et est disposée parallèlement à sa voisine avec un décalage d'un demi pas selon l'axe de l'hélice. Cette structure est stabilisée par de nombreuses interactions de Van der Waals et liaisons hydrogène.

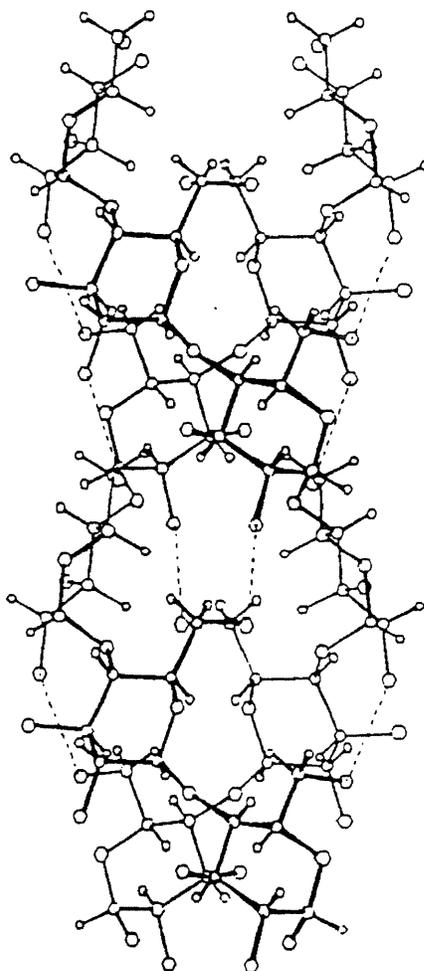


Figure 3.6: Représentation d'une double hélice formée par l'association de deux brins d'amylose [Imberty et al., 1988 (a)]. En pointillé, sont représentées les liaisons hydrogène.

La forme A de l'amylose est organisée selon une maille monoclinique où chaque double hélice a six voisines et où il est possible de retrouver 4 molécules d'eau entre les hélices (Figure 3.7 (a)). La forme B a une symétrie hexagonale permettant l'inclusion de 36 molécules d'eau en son centre (Figure 3.7 (b)). Le passage de la forme B à la forme A est possible par chauffage [Sair, 1967; Donovan et al., 1983].

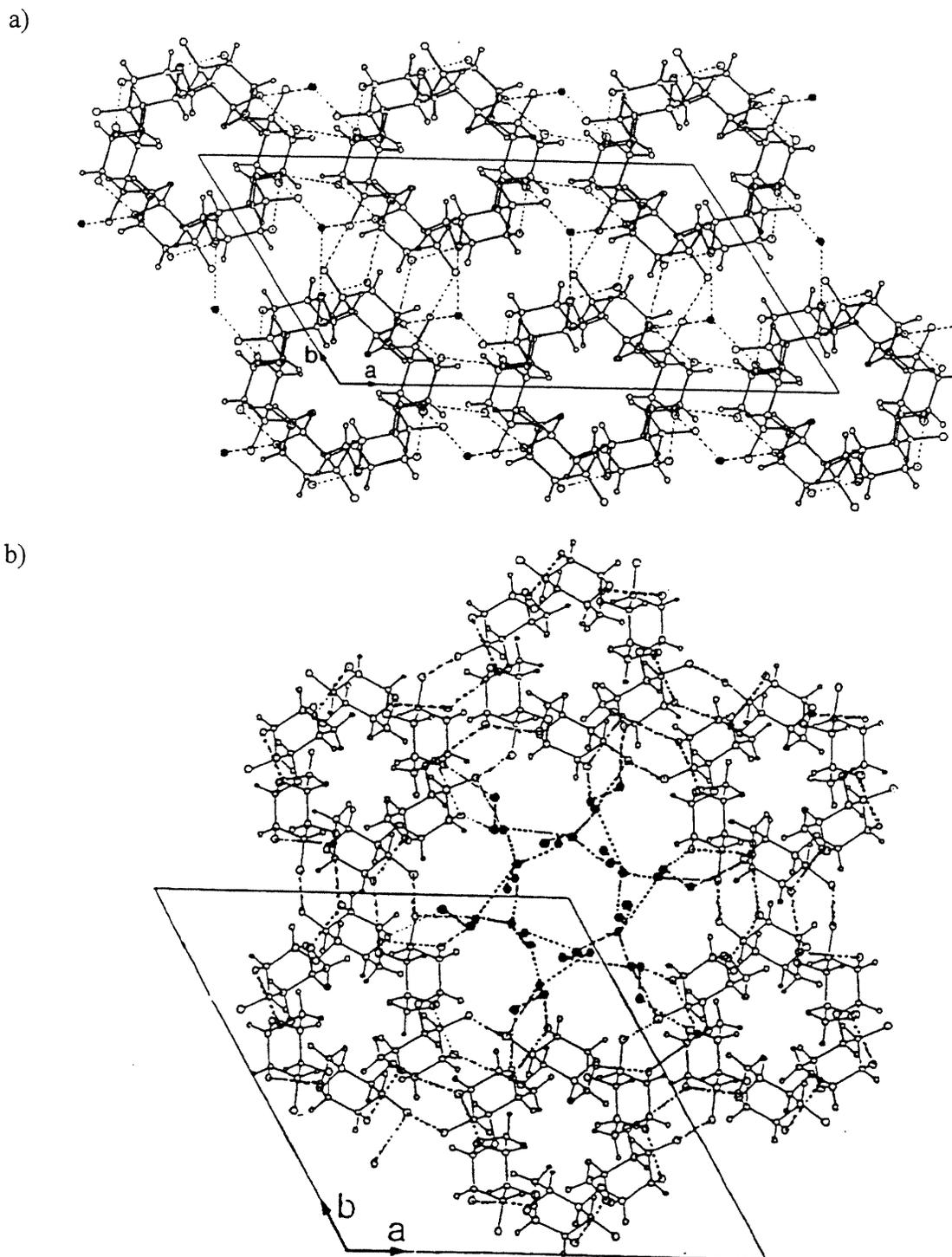


Figure 3.7: Représentation moléculaire des structures cristallines selon un plan perpendiculaire à l'axe des doubles hélices des polymorphes A (a) et B (b) [Imberty et al., 1988 (a) et 1988 (b)].

La RMN du solide (^{13}C CP/MAS) permet de différencier les deux polymorphes [Veregin et al., 1986]. Le signal du carbone C1 est un triplet pour le polymorphe A et un doublet pour le polymorphe B (Figure 3.8). Ils diffèrent également par un déplacement au niveau du carbone C6. L'unité répétitive dans la double hélice de l'amylose A peut être considérée comme un maltotriose et un maltose dans le cas de l'amylose B [Veregin et al., 1986].

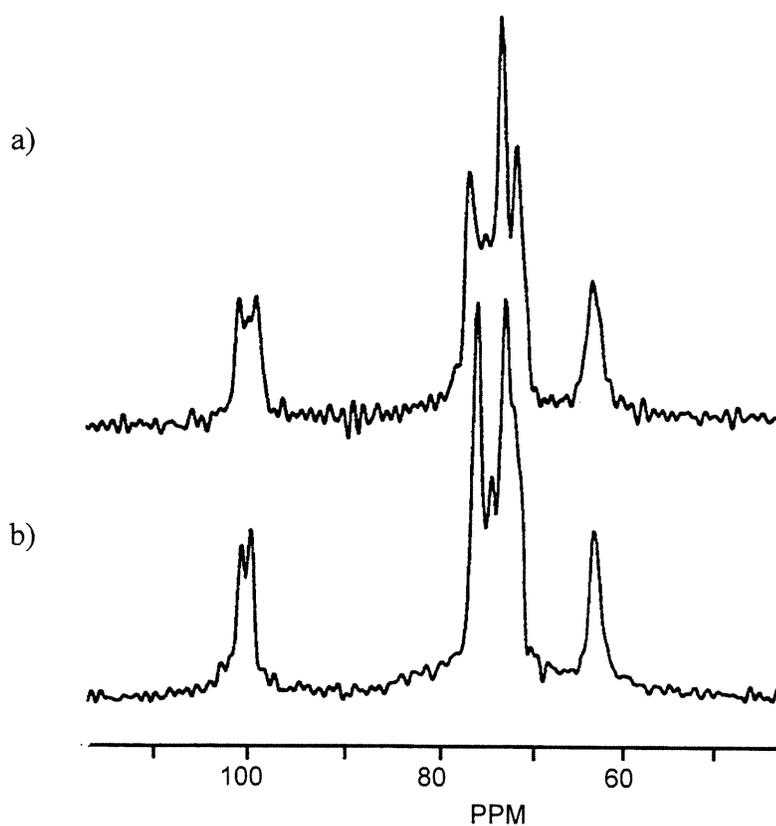


Figure 3.8: Spectre RMN du solide ^{13}C CP/MAS d'amylose hydratée sous une humidité relative de 100 %. (a) amylose de type A et (b) amylose de type B [Veregin et al., 1986].

La diffraction de rayons X permet aussi de différencier les deux structures polymorphiques présentes dans l'amylose. Les distances caractéristiques des fibres

d'amylose de type A et B ont été déterminées par Wu et Sarko, (1978 (a) et 1978 (b)). Bien que la diffraction de rayons X soit un outil puissant permettant de caractériser les structures polymorphes de l'amidon, elle devient beaucoup moins indicative et précise lorsque la cristallinité de l'amidon diminue. Dans ces situations, l'analyse par diffraction de rayons X peut toutefois être complétée par la technique RMN du solide ^{13}C CP/MAS [Zobel, 1994].

3.1.4. Formation d'un gel d'amidon résistant aux enzymes amylolytiques

L'amidon résistant à l'attaque enzymatique est une fraction de l'amidon qui est non digestible et qui peut jouer un rôle physiologique important. Il n'est pas digéré par l' α -amylase dans le petit intestin, mais peut être fermenté par la glucoamylase des micro-organismes composant la flore normale du gros intestin chez l'homme. Englyst et al. ont suggéré un mode de classification pour les différents amidons présentant une résistance à l'attaque enzymatique. Le type I n'est pas physiquement accessible et est partie intégrante des cellules des plantes. Le type II est la forme granulaire de l'amidon qui n'est pas gélatinisé. Le type III est un amidon qui a été gélatinisé, puis rétrogradé [Englyst et al., 1992]. Les amidons résistant aux enzymes sont généralement classés à l'intérieur de ces trois classes, mais il est possible de retrouver d'autres amidons résistants, obtenus suite à des modifications chimiques (i.e. substitution et réticulation) [Biliaderis, 1991 (a) et 1992].

Pendant l'entreposage de l'amidon gélatinisé, une fraction de celui-ci devient progressivement résistante aux enzymes amylolytiques (type III). L'étude de cet amidon rétrogradé par diffraction de rayons X a démontré que l'amidon rétrogradé possède une structure cristalline de type B [Sievert et al., 1991] et qu'on observe une transition endothermique (par DSC) de ce type d'amidon dans l'eau, vers 150 °C [Sievert and Pomeranz, 1990]. Il en a été conclu que la résistance enzymatique de l'amidon de type III provient essentiellement de la rétrogradation de l'amylose [Biliaderis, 1991 (a)].

La résistance à l'amylolyse de l'amylose est évidemment très importante dans l'industrie alimentaire, mais elle l'est aussi lorsqu'il s'agit de faire usage d'un dérivé

d'amidon dans la formulation d'une forme à libération contrôlée. La résistance à l' α -amylase des comprimés fabriqués à partir d'un amidon commun gélatinisé et réticulé [Kost and Shefer, 1990], d'un mélange d'amylose et d'éthylcellulose [Milojevic et al., 1995], de l'amylose à haute teneur en amylose pré-gélatinisé et réticulé [Mateescu et al., 1997], et « d'amylose à chaînes courtes » (obtenu suite au traitement de l'amidon par la pullulanase) a été démontrée [Te Wierik et al., 1997].

3.1.5. Complexation de l'amylose

Le procédé de fabrication de l'amylose réticulé [Mateescu et al., 1995] comporte une étape de précipitation et déshydratation par l'acétone. De plus, même si on n'avait pas recouru à l'acétone, la présence de lipides dans les sphérosomes au sein des granules d'amidon pourrait, selon certains auteurs, être suffisante pour donner naissance au phénomène de complexation [van Soest et al., 1996]. La complexation de l'amylose par des solvants organiques ou par les acides gras doit donc être discutée. D'ailleurs, plusieurs auteurs [Te Wierik et al., 1997] considèrent que dans le cas de leurs travaux, la complexation de l'amylose est essentielle pour obtenir les propriétés de libération contrôlée recherchées.

L'amylose de type V est le plus souvent obtenu par la précipitation d'une solution d'amidon métastable suite à l'addition d'un agent complexant [van Soest et al., 1996]. Il est généralement admis que seul l'amylose, composé essentiellement non ramifié de l'amidon, peut être préparé sous la forme V. Les études par diffraction de rayons X, ont permis d'établir que l'amylose V adopte une configuration hélicoïdale de 6 unités de glucose par tour d'hélice [Helbert, 1994]. Par la suite, des études par la RMN du solide [Veregin et al., 1987] ont confirmé ce modèle.

Le précipité cristallin pouvant être formé à partir d'une multitude d'agents complexant de nature hydrophobe et hydrophile [Young, 1984] adopte une conformation hélicoïdale gauche [Veregin et al., 1987]. Comparativement à la conformation de double hélice A et B, le type V possède une grande cavité en son

centre et il est considéré que l'agent complexant puisse s'y retrouver. Selon l'origine de l'agent complexant du milieu de cristallisation, il est possible de préparer diverses structures cristallines contenant un nombre différent de glucoses par tour d'hélice [Helbert, 1994; Helbert et al., 1994].

3.1.5.1. Complexation de l'amylose par les lipides

La présence d'un complexe amylose - lipides peut être révélée par une transition endothermique à des températures largement supérieures à l'endotherme de fusion des cristaux d'amidon. La formation d'un complexe amylose - lipides est thermoréversible [Biliaderis, 1991 (a) et (b)]. Une fois complexé, l'amylose ne sera plus disponible pour la cristallisation de type B. Ainsi, la première étape de gélification de l'amidon sera perturbée, avec la mise en place quasi - instantanée d'une structure cristalline de type V de l'amylose. Cette structure ne pourra être détruite qu'à des températures supérieures à 100 °C, comme pour l'amylose rétrogradé [Biliaderis, 1991 (a) et (b); Colonna et Thibault, 1986].

Sievert et Wursch ont effectué une étude fort importante permettant la compréhension du phénomène d'association et de dissociation de l'amylose par calorimétrie différentielle en présence et en absence d'agent complexant [Sievert and Wursch, 1993]. L'étude a été effectuée sur l'amylose de pommes de terre et sur un amylose résistant aux enzymes amylolytiques (RS) en présence et en absence de la L- α -lysophosphatidylcholine (agent complexant). La température de transition endothermique (fusion) de l'amylose de pommes de terre rapportée est de 153.6 °C. La répétition du cycle de chauffage et refroidissement mène à l'augmentation de l'organisation du réseau d'amylose et à la diminution de la température de transition endothermique jusqu'à 124.1 °C (après 5 cycles de chauffage). Les courbes de refroidissement ont révélé la présence d'une transition exothermique attribuable à la réassociation des chaînes d'amylose, tant pour l'amylose de pommes de terre que l'amylose RS. Cette transition exothermique a été observée à 49.8 °C pour l'amylose de pommes de terre (enthalpie de 17.3 J/g). Les auteurs rapportent que lorsque

l'amylose est refroidi sous la température de transition exothermique, puis réchauffé à des températures inférieures à la température de transition endothermique (fusion), il n'apparaît pas de transition exothermique lors du refroidissement, ce qui suggère fortement une transition attribuable à la réassociation des chaînes d'amylose. Le chauffage de l'amylose en présence de 10 % de l'agent complexant présente une transition témoignant de la dissociation du complexe amylose (11.9 J/g) à une température beaucoup plus basse (108.4 °C) et une autre transition (2.3 J/g seulement) à 154.2 °C (dissociation des chaînes d'amylose). Ce résultat démontre que le complexe amylose - lipide peut s'effectuer simultanément pendant le chauffage. Le refroidissement de l'amylose à partir de 180 °C en présence du complexant (10 % p/p) a présenté une transition exothermique à environ 80 °C attribuable à la formation du complexe amylose - lipide. La transition exothermique d'association des chaînes d'amylose, normalement retrouvée à 49.8 °C, a totalement disparu, ce qui suggère que la complexation a inhibé la formation des doubles hélices d'amylose. De plus, les auteurs rapportent que l'importance de l'inhibition de l'association des chaînes d'amylose est proportionnelle à la concentration d'agent complexant (Figure 3.9) et qu'il faut jusqu'à 10 % d'agent complexant pour inhiber complètement la formation de doubles hélices d'amylose.

3.1.5.2. Complexation de l'amylose par des solvants organiques

L'amylose complexé du type V_h est la forme la plus étudiée et la mieux connue des amyloses complexés avec des molécules organiques. Ce type de complexe est obtenu par précipitation de l'amylose métastable en solution par des alcools.

Pour obtenir la formation d'un complexe de l'amylose par un alcool, certaines conditions doivent être remplies. Bauer et Pacsu ont préparé une dispersion d'amidon de maïs à 2 - 3 % p/p dans l'hydroxyde de sodium à 1 N. Après la neutralisation de la dispersion, l'ajout de butanol ou de pentanol à saturation ne produit pas de précipité. Toutefois, lorsque cette dispersion est chauffée à 90 °C, un précipité apparaît lors du refroidissement du mélange.

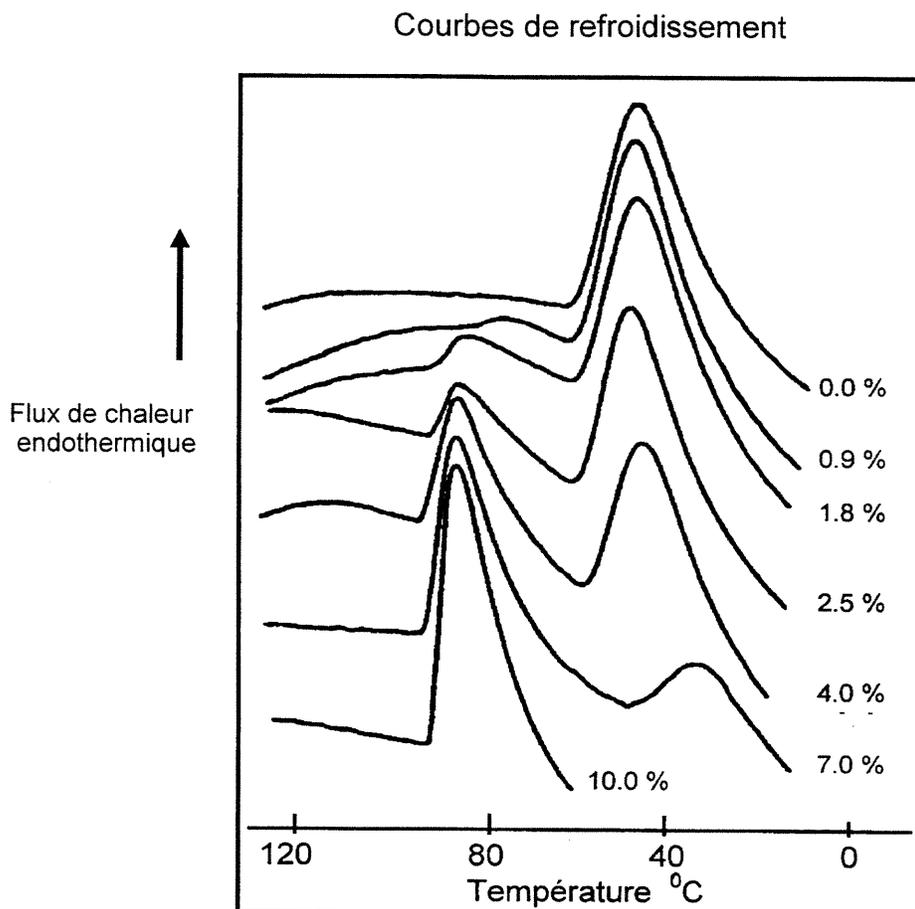


Figure 3.9: Effet de différentes concentrations de L- α -lysophosphatidylcholine sur la température de transition exothermique obtenue lors du refroidissement de 180 °C à 4 °C [d'après Sievert and Wursch, 1993].

Il est donc impératif de chauffer la solution à un minimum de 60 °C pour que la complexation de l'amylose par le butanol s'effectue [Bauer and Pacsu, 1953 cité par Young, 1984]. Récemment, Van Soest et al. ont décrit la préparation d'un complexe amylose $V_{\text{isopropanol}}$. Il est précisé que l'ajout de l'isopropanol doit être effectué à 80 °C dans la solution d'amylose métastable pour obtenir une structure hautement cristalline de type hélice simple [van Soest et al., 1996].

Bien qu'il soit généralement accepté qu'un complexe amylose - lipide puisse

être dissocié en chauffant à des températures supérieures à 100 °C, Le Bail et al. ont démontré par diffraction de rayons X que la transition polymorphique des complexes cristallins V_h (amylose-éthanol) peut être effectuée lors d'une réhumidification [Le Bail et al., 1995]. La transformation du type V_h à la forme V_a est donc possible par déshydratation de l'amylose V_h et il est aussi possible de passer de la forme V_h à la forme A ou B par hydratation. La forme A de l'amylose est obtenue suite à une exposition d'un produit de type V_h de faible degré de polymérisation (DP 20) à des humidités élevées (plus de 85 % HR) pendant 2 jours. Toutefois, un amylose de type B est obtenu à partir d'un produit de type V_h ayant un degré de polymérisation (DP 80). Le temps nécessaire pour compléter la transition V_h à B, pour l'amylose ayant un degré de polymérisation de 900, est de 7 jours à plus de 85 % d'humidité et de 48 h lorsqu'il est placé dans l'eau.

L'existence d'un autre polymorphe de l'amylose (V_E) a aussi été récemment rapportée. Il s'agit de la forme V_E de l'amylose, qui est obtenue suite à l'extrusion de l'amidon à des températures supérieures à 185 °C et à un taux d'humidité faible (environ 13 %). Lors de la réhydratation partielle (30 % p/p) de l'amidon, la structure V_E de l'amylose se transforme toujours en la forme V stable [Colonna et al., 1989].

3.2. Amylose réticulé

L'excipient pharmaceutique connu sous le nom d'amylose réticulé est en fait un amidon à haute teneur en amylose (environ 70 % d'amylose p/p) qui a été gélatinisé, puis réticulé à l'aide de l'épichlorhydrine. Les propriétés de gélification et la qualité du gel obtenu suite à l'hydratation des comprimés (élasticité et souplesse, réseau dense et insoluble) sont des aspects importants qui font de l'amylose réticulé, un excipient pharmaceutique fort intéressant.

Plusieurs procédés commerciaux et semi - commerciaux de fractionnement et de purification de l'amylose ont été rapportés [Young, 1984] et récemment comparés [Garcia et al., 1995]. Suite à la lixiviation par chauffage de l'amidon dans un milieu aqueux, le fractionnement de l'amylose peut être effectué par effet de «salting out» en utilisant le sulfate de magnésium (sel d'Epsom) ou par rétrogradation et cristallisation

contrôlée de l'amylose ou encore par la précipitation de l'amylose suite au débranchement de l'amylopectine par la pullulanase. Toutefois, compte tenu de la disponibilité des hybrides d'amidon de maïs à haute teneur en amylose pouvant contenir jusqu'à 70 % d'amylose et de l'amidon cireux pouvant contenir jusqu'à 95 % d'amylopectine, le fractionnement commercial de l'amidon devient moins intéressant à cause des coûts énergétiques qui sont associés à ces procédés [Young, 1984]. C'est pourquoi, si une utilisation commerciale est prévue et qu'une teneur élevée en amylose est nécessaire, il est préférable d'utiliser un hybride d'amidon à haute teneur en amylose.

Essentiellement, la réticulation de l'amidon à haute teneur en amylose (contenant environ 70 % d'amylose et désigné plus loin par amylose) à l'aide de l'épichlorhydrine est effectuée selon le même mécanisme de réaction que celui de l'amidon conventionnel présenté dans le chapitre 2.4.4. et sensiblement dans les mêmes conditions que celles rapportées dans la littérature. Avant la découverte de ses propriétés comme excipient pour la libération contrôlée de médicament, l'amylose réticulé était utilisé comme support polymérique dans la chromatographie d'exclusion moléculaire (filtration sur gel) [Serban et al., 1976 (a), 1975], d'affinité [Mateescu et al., 1980] et d'échange ionique [Schell et al., 1978 ; Serban et al., 1976 (b)]. L'amylose réticulé a également été utilisé comme substrat sélectif pour la détermination spécifique de l' α -amylase [Mateescu et al., 1983, 1980 et 1976].

Les propriétés de l'amylose réticulé comme excipient pour la libération contrôlée ont été découvertes en 1989 et ont été discutées dans diverses publications [Mateescu et al., 1995 ; Dumoulin, 1991 (a) ; Dumoulin et al., 1991 (b), 1991 (c), 1990 ; Lenaerts et al., 1992 et 1991]. La fabrication de l'amylose réticulé était effectuée en masse compacte d'amylose (20 g à la fois) soumis à un gonflement limité dans un volume minimal de NaOH 5 N. Le produit obtenu était ensuite dilué et neutralisé, puis déshydraté à l'aide de l'acétone. Des produits possédant différents taux de réticulation pouvaient être obtenus en faisant varier le rapport épichlorhydrine/amidon. Une représentation schématique de la structure de l'amylose réticulé est présentée à la Figure 3.10.

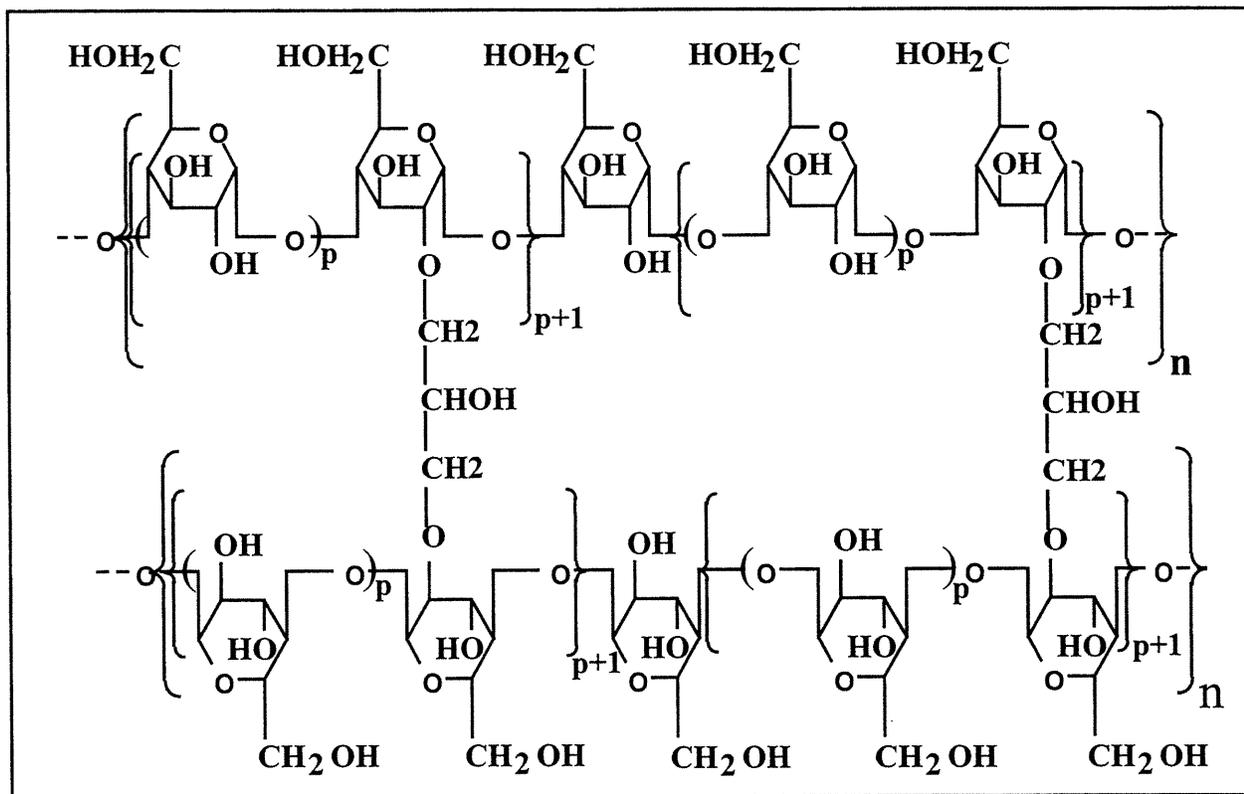


Figure 3.10 : Représentation schématique de la structure hypothétique d'une section de jonction covalente de l'amylose réticulé.

Plusieurs études ont démontré que les profils de libération de la théophylline obtenus à partir d'une matrice d'amylose réticulé se rapprochent davantage d'une libération constante et régulière en fonction du temps ($n = 0.66$ à 0.89) que d'une libération fickienne [Mateescu et al., 1995; Dumoulin, 1991 (a); Lenaerts et al., 1991]. Une légère augmentation du taux de réticulation de l'amylose conduit à une augmentation des temps de libération avec un maximum (37 heures pour libérer 90 % de la charge initiale) pour un rapport épichlorhydrine/amylose (1 à 10%), puis à une diminution rapide des temps de libération pour des taux de réticulation plus élevés [Mateescu et al., 1995]. Le temps total de libération semble coïncider avec le temps

nécessaire pour atteindre le gonflement à l'équilibre des comprimés [Lenaerts et al., 1991]. La vitesse de libération d'un médicament à partir d'une matrice de d'amylose réticulé est aussi influencée par la nature du principe actif (principalement sa solubilité), mais n'est pratiquement pas influencée par une variation de la force de compression (0.15 à 5.5 T / cm²) [Dumoulin, 1991 (a); Lenaerts et al., 1992]. Un comprimé d'amylose réticulé peut contenir jusqu'à 60 % de théophylline tout en maintenant un contrôle sur la libération [Dumoulin, 1991 (a); Mateescu et al., 1995]. La charge maximale de principe actif pouvant être introduite dans un comprimé, sans affecter le profil de libération, diminue avec l'augmentation du degré de réticulation [Mateescu et al., 1995]. La charge maximale pouvant être incluse dans un comprimé, sans que son profil de libération ne soit modifié, dépend de la nature du principe actif (principalement sa solubilité). Le pH du milieu de dissolution n'affecte pas le profil de dissolution d'un médicament, à condition que la solubilité de ce dernier ne soit pas influencée par le pH [Dumoulin, 1991 (a)].

Les résultats et observations décrits précédemment (i.e. profil de libération anormal, durée de libération reliée au temps nécessaire pour atteindre l'équilibre de gonflement des comprimés, absence de transition polymérique de l'état vitreux à caoutchouteux, etc.) suggéraient l'implication d'un mécanisme de libération autre que la seule diffusion du principe actif.

Dans le but d'évaluer la présence et l'implication des liaisons hydrogène dans le mécanisme de libération de principe actif à partir d'une matrice d'amylose réticulé, une étude de gonflement des poudres et comprimés d'amylose réticulé avait été effectuée dans l'eau et dans l'urée 8 M [Dumoulin, 1991 (a); Mateescu et al., 1995]. Avec l'augmentation du taux de réticulation, on observe une diminution du volume de gonflement des poudres placées dans l'eau et une augmentation du volume de gonflement des comprimés. Le rapport des volumes de gonflement poudre/comprimé (P/T) est nettement plus élevé pour les produits ayant un faible taux de réticulation. Les volumes de gonflement obtenus pour les poudres et comprimés placés dans l'urée (un agent ayant la capacité de briser les ponts hydrogène) sont tous supérieurs à ceux obtenus dans l'eau et le rapport des volumes de gonflement (P/T) l'est davantage [Dumoulin, 1991 (a); Mateescu et al., 1995].

Sur la base de ces données préliminaires, l'hypothèse d'un mécanisme de libération reposant sur la pénétration de l'eau dans le comprimé, provoquant le remplacement des liens amylose-amylose (maintenus principalement par des liaisons hydrogène) par de nouveaux liens eau-amylose (formation d'un réseau de gel impliquant de nombreuses liaisons hydrogène) capables de freiner la pénétration de l'eau et la diffusion du principe actif avait alors été émise [Lenaerts et al., 1991; Mateescu et al., 1995].

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 4.0.: PRÉSENTATION DES OBJECTIFS

La réalisation de ce travail passe par l'accomplissement des objectifs suivants:

- Réaliser la transposition d'échelle du procédé de fabrication de l'amylose réticulé (20 g à 1 kg).
- Démontrer la versatilité de l'amylose réticulé: fabriquer des comprimés à libération contrôlée contenant d'autres principes actifs autre que la théophylline.
- Évaluer l'effet de la concentration de l' α -amylase sur la libération *in vitro* de principe actif lorsque l'enzyme est présente dans le milieu de dissolution.
- Élargir le champs d'utilisation de l'amylose réticulé pour des molécules moins solubles en incorporant de l' α -amylase dans le mélange pulvérulent d'amylose réticulé et du principe actif avant d'effectuer la compression.
- Évaluer les propriétés liantes de l'amylose réticulé.
- Développer et exploiter les propriétés désintégrant de l'amylose possédant un taux élevé de réticulation (plus de 15 %).
- Évaluer les cinétiques de pénétration d'eau dans les comprimés en fonction du taux de réticulation de l'amylose.
- Caractériser la poudre et les comprimés d'amylose de divers degrés de réticulation par diffraction de rayons X.
- Caractériser les poudres d'amylose de divers degrés de réticulation par FT-IR.
- Décrire la cinétique de transport de l'eau dans les comprimés d'amylose réticulé pendant l'hydratation à l'aide des techniques d'analyse d'image.
- Caractériser le changement morphologique de l'amylose lors de l'hydratation des poudres et comprimés d'amylose réticulé à l'aide de la technique de la RMN du solide ^{13}C CP/MAS.
- Démontrer le fonctionnement et la versatilité *in vivo* ainsi que la faible dépendance des matrices d'amylose réticulé face aux variations interindividuelles.

L'objectif général de ce travail est donc d'étendre les possibilités de l'amylose réticulé à titre d'excipient pharmaceutique, ainsi que de contribuer à la caractérisation de l'amylose réticulé, tout en effectuant le rapprochement avec les propriétés gélifiantes de l'amidon et ainsi, de finalement proposer une hypothèse décrivant le mécanisme de libération de médicaments à partir de matrices à base d'amylose réticulé.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 5.0.: LIBÉRATION CONTRÔLÉE ENZYMATIQUEMENT À PARTIR DE COMPRIMÉS D'AMYLOSE RÉTICULÉ

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

5.1. Cross-linked polyhydroxylic material for enzymatically controlled drug release

Mateescu M. A., Dumoulin Y., Cartilier L. et Lenaerts V.

Brevet EU no. 5,603,956, (1997)

Accordé et publié

United States Patent [19]

Mateescu et al.

[11] Patent Number: **5,603,956**

[45] Date of Patent: **Feb. 18, 1997**

[54] **CROSS-LINKED ENZYMATICALLY CONTROLLED DRUG RELEASE**

[75] Inventors: **Mircea A. Mateescu, Verdun; Yves Dumoulin, Ste-Julie; Louis Cartilier, Beaconsfield; Vincent Lenaerts, Argenteuil, all of Canada**

[73] Assignee: **Labopharm Inc., Ste-Therese, Canada**

[21] Appl. No.: **261,228**

[22] Filed: **Jun. 16, 1994**

Related U.S. Application Data

[63] Continuation of Ser. No. 919,762, Jul. 24, 1992, abandoned, which is a continuation-in-part of Ser. No. 787,721, Oct. 31, 1991, abandoned, which is a continuation of Ser. No. 618,650, Nov. 27, 1990, abandoned.

[51] Int. Cl.⁶ **A61K 47/36**
 [52] U.S. Cl. **424/488; 424/94.1**
 [58] Field of Search **424/488, 94.1**

[56] **References Cited**

U.S. PATENT DOCUMENTS

2,987,445	6/1961	Levesque	424/94 X
3,087,860	4/1963	Endicott	424/94 X
3,181,998	5/1965	Kanig	167/82
3,493,652	2/1970	Hartman	424/94
3,622,677	11/1971	Short	424/94 X
4,088,798	5/1978	Michaelis	424/94 X
4,124,705	11/1978	Rothman	424/94
4,230,687	10/1980	Sair	424/94 X
4,344,968	8/1982	Aoda et al.	424/94 X
4,369,308	1/1985	Trubiano	424/94 X
4,713,249	12/1987	Schroder	424/94 X
4,755,397	7/1988	Eden et al.	424/94 X
4,761,289	8/1988	Shalati et al.	424/94 X
4,812,445	3/1989	Eden et al.	424/94 X

4,814,182	3/1989	Graham et al.	424/94 X
4,933,185	6/1990	Wheatley et al.	424/461
4,952,402	8/1990	Sparks et al.	424/94 X
5,108,758	4/1992	Allwood et al.	424/468

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

2041774 5/1992 Canada
 WOA8900045 1/1989 WIPO

OTHER PUBLICATIONS

J. of Controlled Release vol. 15, No. 1, Feb. 1991 Lenaerts et al pp. 39-46.

V. Lenaerts et al., "Controlled Release of Theophylline from Cross-linked Anylose Tablets" *Journal of Controlled Release* 15(1): 39-46 (1991).

Canada (Abstract), Derwent Publications, Week 9233, May 28, 1992, CA A2 041 774.

Pharm. ACTA Helv. 56, Nr. 4-5 (1981).

Pharm. ACTA helv. 55, Nr. 6 (1980).

Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition, vol. 21, 983-997 (1983).

Analytical Letters, 14 (B17 & B18), 1501-1514 (1981).

Primary Examiner—Peter F. Kulkosky

Attorney, Agent, or Firm—Foley & Lardner

[57] **ABSTRACT**

The present application is concerned with a solid slow release pharmaceutical dosage unit. More specifically, the invention is directed to a tablet form prepared by direct compression of cross-linked amylose (CLA) having a definite cross-linking degree, α -amylase and a pharmaceutical agent. The presence of the cross-linked amylose allows a sustained release of the drug, while the α -amylase permits the modulation of the release time. In other words, the release time of the drug is function of the amount of α -amylase in the tablet. The amount of α -amylase is defined in terms of Enzyme Units.

10 Claims, 5 Drawing Sheets

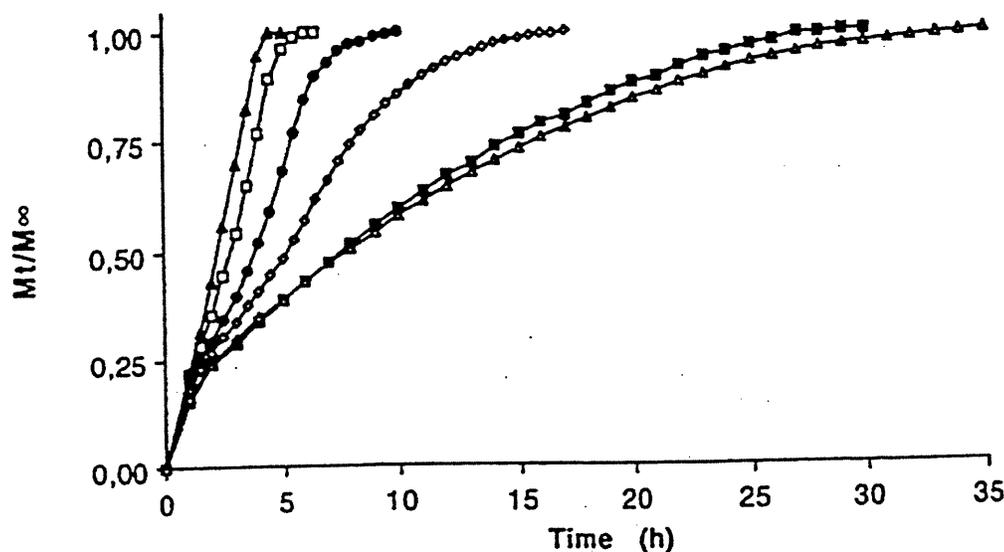


FIG. 1

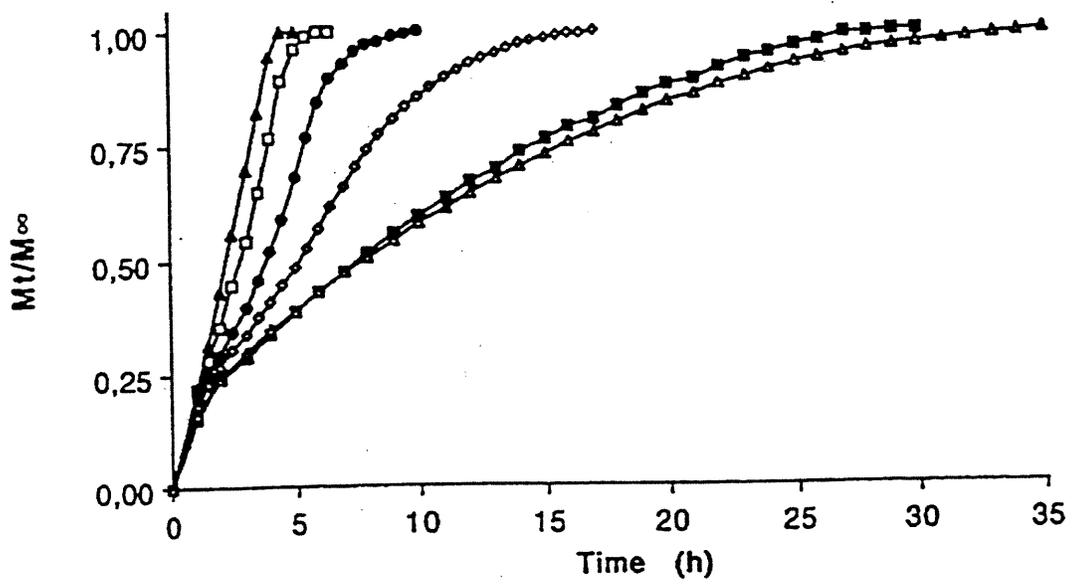


FIG. 2

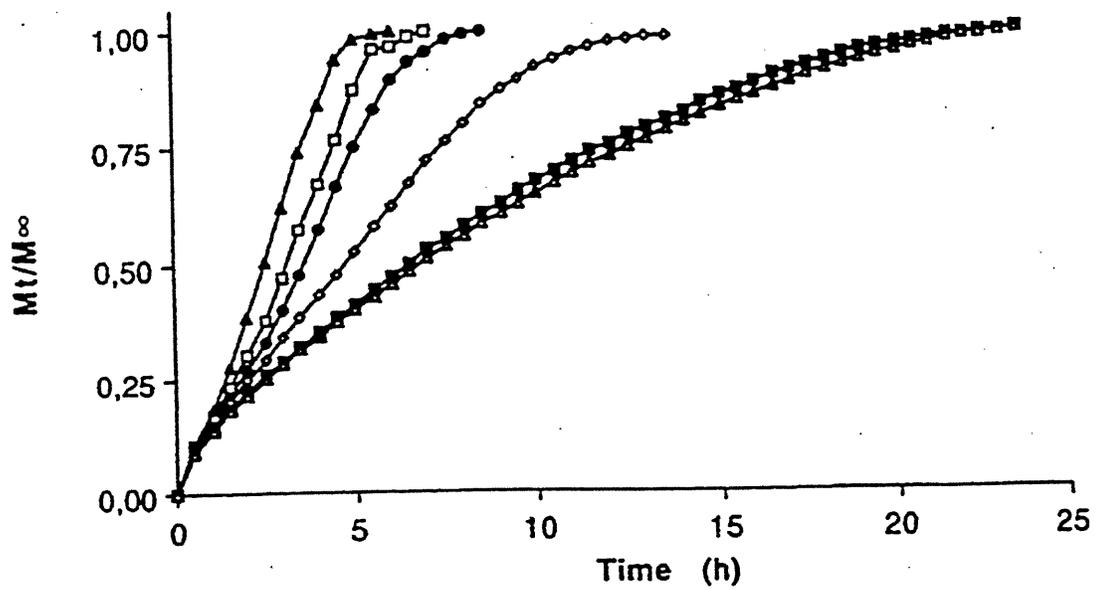


FIG. 3

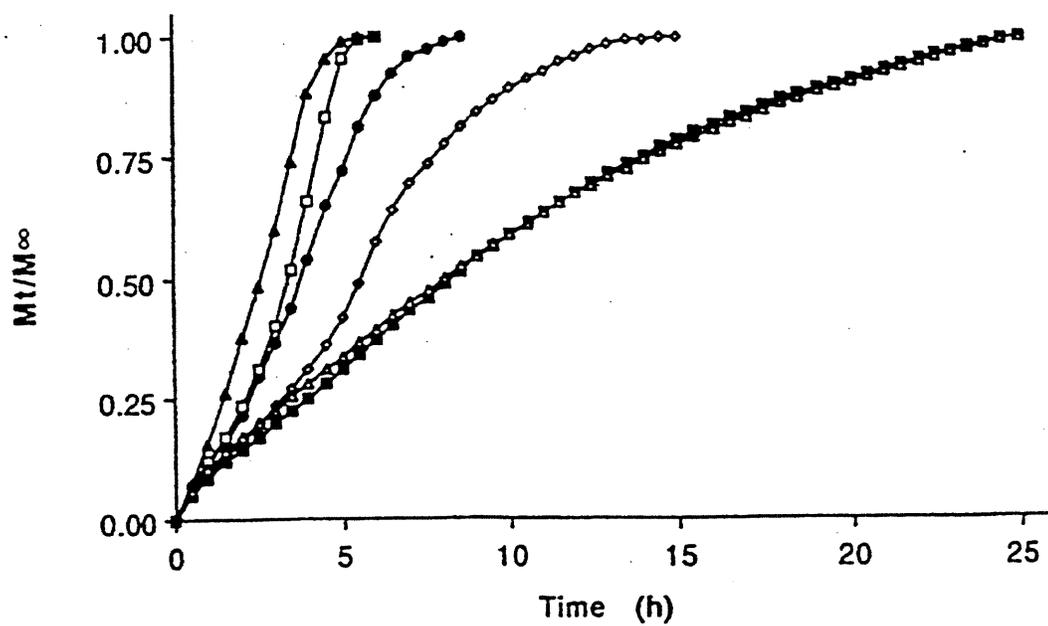


FIG. 4

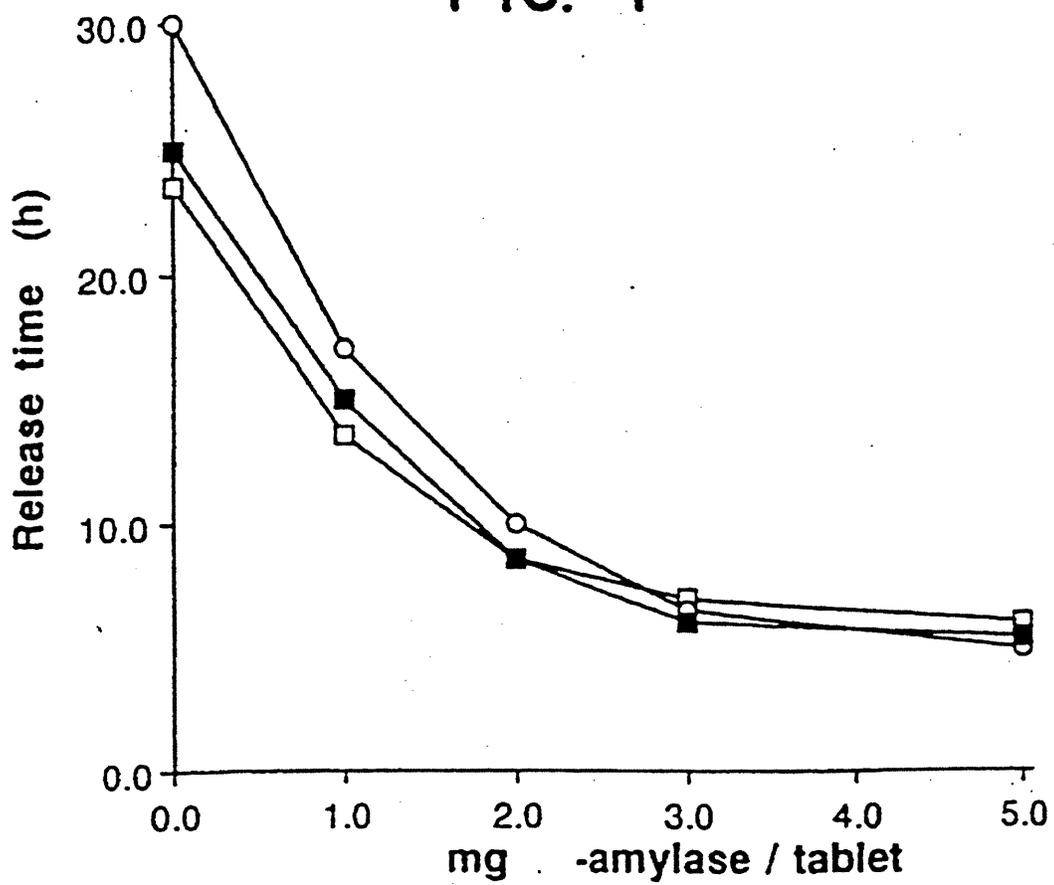
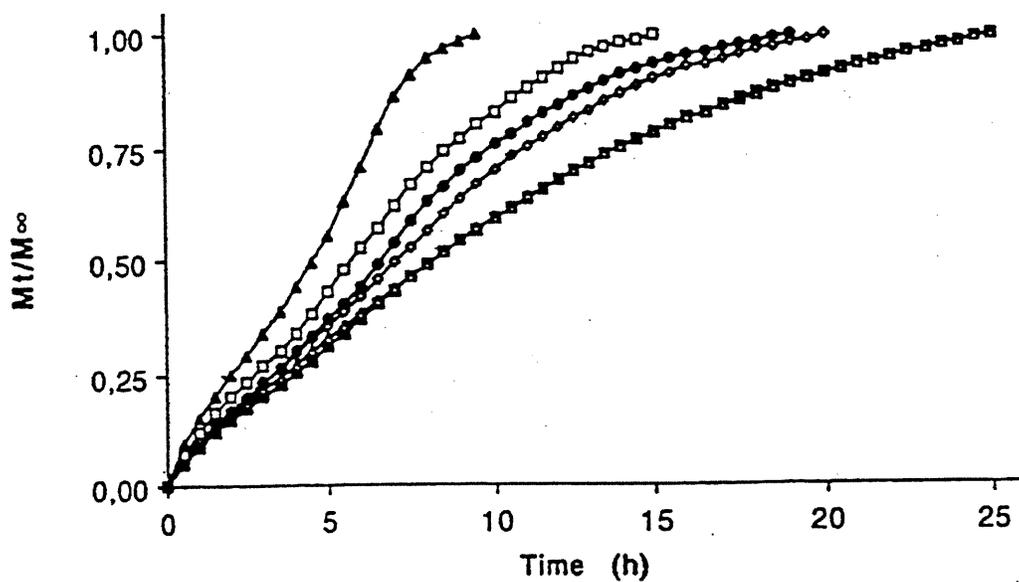


FIG. 5



5,603,956

1

CROSS-LINKED ENZYMATICALLY CONTROLLED DRUG RELEASE

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATION

This application is a continuation of application Ser. No. 07/919,762, filed Jul. 24, 1992, abandoned, which is a continuation-in-part of U.S. patent application Ser. No. 07/787,721 filed Oct. 31, 1991, abandoned, which is a continuation of U.S. patent application Ser. No. 07/618,650, filed Nov. 27, 1990, abandoned.

FIELD OF THE INVENTION

The present invention is concerned with a solid slow release pharmaceutical dosage unit, incorporating cross-linked amylose (CLA) and associated α -amylase as slow release matrix. The drug release is controlled enzymatically by two different sequential molecular mechanisms.

BACKGROUND OF THE INVENTION

The interest for monolithic devices for the controlled release of drugs is continuously growing, and much effort has been done for the development of novel pharmaceutical dosage forms ensuring more constant release rate of liberation over extended periods of time.

Various polymers, such as vinylic polymers, polyethylene, silicone, ethylcellulose, acyl-substituted cellulose, poly(hydroxyethylmethacrylate)-PHEMA, acrylic copolymers and the like, have been proposed for use as matrices for drug controlled release, (see for example U.S. Pat. No. 3,087,860, U.S. Pat. No. 2,987,445, U.S. Pat. No. 4,761,289 and Pharm. Acta Helv., 1980, 55, 174-182, Salomon et al.). Despite the multitude of these polymeric matrices that have been developed (hydrogels, hydrophilic, hydrophobic and the like), no ideal matrix conferring a sustained drug release at a constant rate is known. In this context, many physical and chemical systems have been suggested, most of them based on diffusion-controlled, swelling-controlled or chemically-controlled (external bioerosion) drug release.

The diffusion controlled systems, which require hydrophilic polymers such as hydroxyethylcellulose, sodium-carboxymethylcellulose and the like, allow a sustained release of drugs, but do not permit a rigorous control since the release rate is not constant.

The swelling-controlled systems are based on glassy homogeneous polymeric matrices free of internal channels, into which the water front penetrates at a constant rate. Behind this front, the polymer is in a rubbery state. If the diffusion coefficient of the drug is significantly higher in the rubbery state than in the glassy state of the polymer, a zero order release can be obtained, but only for a limited degree of release, usually around 60% from the total amount of loaded drug, and this only for the case of relatively low initial drug concentration (see N. Peppas and N. Franson, J. Polym. Sci., 21, 983-997, 1983. Another mechanism allows a slow drug release mediated by the tablet external bioerosion during its gastroenteric residence (E. Doelker and P. Buri, Pharm. Acta Helv., 56, 111-117, 1981). This system is mainly based on starch or lipidic matrices, and the rate of drug release is related to the complex composition of the gastric fluids (including its enzymatic set) and is therefore susceptible to variations from one individual to another.

2

Although these mechanisms allow interesting release kinetics, the release times and the linearity of the dissolution curves, are still to be improved.

Cross-linked amylose (CLA), a semisynthetic material obtained by the cross-linking of amylose with a cross-linking agent such as epichlorohydrin or 2,3-dibromopropanol, has recently been introduced as a matrix for drug controlled slow release, wherein the drug dissolution rate is controlled by a mechanism based on hydrogen associations established following the compression, between amylose chains (see U.S. Ser. No. 787,721 filed Oct. 31, 1991). Such CLA matrix provides substantially linear release kinetics.

However, the release times of certain drugs, mainly the ones with a limited aqueous solubility or presenting some affinity interactions with the CLA matrix, can sometimes be higher than the usual release time observed for the majority of pharmaceutical products, which is about 15-24 hours. Release times exceeding 24 hours are generally undesirable, except for rare occasions. Furthermore, there are several drugs (cardiovascular, anaesthetics, sedatives, antihistaminics, etc.) for which the optimal release time is of 6-12 h.

It would therefore be highly desirable to obtain a slow release pharmaceutical dosage unit which would permit a controlled slow release of the drug present therein. Such pharmaceutical dosage unit would further allow the control of the time of release depending on the optimal time required for a given pharmaceutical product.

SUMMARY OF THE INVENTION

In accordance with the present invention, there is provided a solid slow release pharmaceutical dosage unit made up of an admixture of 1) a therapeutic dosage of a pharmaceutical product; 2) a cross-linked polymer of amylose with a cross-linking agent, wherein the cross-linking has been carried out with from about 1 to about 20 grams of cross-linking agent per 100 grams of amylose; and 3) an enzyme for modulating the release of the pharmaceutical product. Preferably the pharmaceutical dosage unit comprises at least 40% by weight of cross-linked amylose (CLA), and no more than 60% by weight of a pharmaceutical product. The amount of α -amylase present in the tablet is determined by its Enzyme Unit (EU) activity. Typically, an activity of 100 EU or less per tablet is sufficient. However, depending on the release time desired for a given pharmaceutical product, the enzyme activity can be modified at will in the tablet.

The cross-linked amylose used in the course of the present invention is obtained by cross-linking amylose with a suitable cross-linking agent, such as epichlorohydrin, 2,3-dibromopropanol and the like. Preferably, from 1 to 20 g of cross-linking agent are used per 100 g of amylose, corresponding to a cross-linking degree of 1 to 20, or CLA-1 to CLA-20 respectively, CLA-6 being the most preferred cross-linking degree.

In an aspect of the present invention, the particles of the cross-linked polymer of amylose have a size that varies generally between about 0.5 and about 5 microns. These particles form agglomerates of approximately 25-700 microns, as observed by Scanning Electron Microscopy (SEM).

IN THE DRAWINGS

FIG. 1 illustrates the release profiles of theophylline in a tablet prepared in accordance with the present invention;

3

FIG. 2 illustrates the release profiles of 4-acetaminophen (acetaminophen) in a tablet prepared in accordance with the present invention;

FIG. 3 illustrates the release profiles of acetanilide in a tablet prepared in accordance with the present invention;

FIG. 4 illustrates the total release time of several drug depending on the contents of α -amylase in the tablet;

FIG. 5 illustrates the influence of the activity of α -amylase in the dissolution media on the release profiles of acetanilide.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The mechanism involved in the dosage unit of the present invention consists in that α -amylase is able to specifically recognize the CLA polymer as a semisynthetic substrate, and to catalyze the hydrolysis of its α -1,4 glucosidic bonds. The rate of the enzymatic hydrolysis is limited by the rate of water front penetration, which is itself controlled by the interchain hydrogen associations. Therefore, the amylose chains are slowly and partially nicked, but with the preservation of the three-dimensional structure over a long period, since the polymer is articulated by multiple amylose interchain bridges introduced by the cross-linking agent, and by interchain hydrogen associations created during the compression of the tablet. The release of the drug is therefore easily modulated by the α -amylase enzyme kinetics, which are controlled by the above mechanism.

The solid slow release pharmaceutical dosage unit of the present invention can be obtained by the direct compression of an admixture of the drug in the required dosage, with an amount of α -amylase corresponding to a definite number of enzyme units, and with the CLA polymer.

The amount of α -amylase in the CLA matrix depends on the required release time for a given drug under optimal release conditions. The present invention allows controlled release dosage units forms of various types of drugs. It is of importance however to note that the pharmaceutical product present in the solid slow release dosage unit of the present invention must not inhibit the activity of the α -amylase, since it would then destroy the beneficial effect of same. For example, if an acidic drug is associated with the dosage unit of the present invention, it is preferred to incorporate a buffer in the tablet in order to avoid such undesirable interactions between the drug and the enzyme.

Amylose is a natural substance obtained from starch, a binary compound constituted by the amylose, based on non-ramified polyglucose chains, wherein the repetitive glucose units are linked by α -1,4-glucosidic bonds, and by the amylopectin branched polyglucose polymer with an important frequency of branching points based on α -1,6-glucosidic bonds.

The α -amylase (EC 3.2.1.1) is the enzyme catalysing the specific hydrolysis of internal α -1,4-glucosidic bonds in polyglucose polymers such as starch, amylose and some of their derivatives.

Cross-linked amylose and the α -amylase

Cross-linked Amylose (CLA) is a semisynthetic material exhibiting a three-dimensional structure, wherein the polyglucose chains are linked by transversal bridges introduced by the cross-linking reaction. In order to obtain cross-linked amylose, the amylose is swollen in alkaline medium in a planetary mixer, with homogenization, and then the required amount of cross-linking agent is added, with moderate heating (40°-70° C.), continuing the reaction for a period of

4

up to 1 hour. The type and the amount of cross-linking agent, as well as the reaction time, can be varied. The resulting CLA is then dehydrated, dried and sieved, with retention of the particles having a size ranging approximately from 75-297 μ m.

It is well known that α -amylase is able to recognize cross-linked amylose gel as a modified substrate, by affinity interactions (Mateescu et al, Anal. Lett., 14, 1501-1511, 1981). The present invention now demonstrates that α -amylase is able to hydrolyse the α -1,4-glucosidic bonds of CLA in tablet forms, which allow an enzymatic controlled drug release (ECDR) system.

Preparation of tablets

As shown in U.S. Scr. No. 787,721, filed Oct. 31, 1991, various drugs can be directly compressed with CLA matrices, leading to sustained release forms wherein release times and kinetics are controlled by interchain hydrogen associations. The present application presents a novel controlled release system, wherein the release kinetics are highly correlated with the hydration and with the enzymatic hydrolysis of the CLA matrix. To realize such Enzyme Controlled Drug Release (ECDR) mechanism, α -amylase is incorporated in the tablet. Tablets of approximately 500 mg were prepared, containing amounts of α -amylase of up to 20 mg, corresponding to enzyme activities of up to 100 EU (Enzyme Units) per tablet. One EU is typically defined as the amount of enzyme necessary to catalyze the liberation of one μ mole of maltose per minute. Different drugs, for instance Theophylline, Aspirin, Acetaminophen, Acetanilide and Carnitine were selected for tests purposes. It will become obvious for any man skilled in the art that the present invention is not to be limited to these particular pharmaceutical products, but can also be applied to any drug with the restriction that the drug does not inhibit the activity of the α -amylase.

Tablets of 13 mm diameter and 2.7-4.5 mm thickness were prepared by direct compression in a hydraulic press at more than 0.5 T/cm²; unexpectedly and differently from the literature data, the release kinetics are not influenced by the compression strength of the tablet for the cross-linking range allowing the matrix stabilization by hydrogen associations.

The cross-linking degree, expressed as the amount (in grams) of cross-linking agent used per 100 g of amylose, is a critical parameter for the tablet's stabilization of hydrogen associations. Only low cross-linking degrees, that is from 1 to 20, allow hydrogen bonding, because the length of the interchain glyceric bridges produced by the cross-linking is about 8.7 Å, and if they are not sufficiently distant from one another, hydrogen bonding (5.7 Å) does not occur. The preferred amylose cross-linking degree is 6, but it must be kept in mind that other cross-linking degrees can be used, provided that they allow stabilization of the tablet by hydrogen associations, which control the hydration and consequently the hydrolytic enzyme activity. The slow water penetration reduces the rate of enzymatic hydrolysis to only a limited number of α -1,4-glucosidic bonds. Thus, the advancement of the partial nicking of the structure is limited to a few points only and therefore the drug release is well controlled by the two mechanisms implied: the hydrogen association and the ECDR.

Studies of in vitro drug release from tablets

Tablets were placed individually in 1 l buffer solutions (phosphate, TRIS-HCl) at 37° C. in a Hanson dissolution apparatus (rotating paddle 100 rpm) and the release data recorded with a Beckman DU-65 equipped with the dissolution data system.

Cross-linked amylose and α -amylase are extremely advantageous species for preparing the enzymatically con-

5,603,956

5

trolled drug release dosage unit of the present invention. Cross-linked amylose is easy to manufacture, and the resulting tablets are prepared simply by direct compression. Furthermore, the dosage unit of the present invention is remarkably versatile, since it allows a large choice of drug release times, which are easily regulated by the number of Enzyme Units incorporated in the tablet. The system affords the possibility to maintain the controlled release even at relatively high drug concentration, that is up to 60%. At the same time, the CLA matrix exhibits a high biocompatibility and an excellent in vivo biodegradability.

The following examples are provided to illustrate the invention rather than limit its scope. Other variations within the scope of the present invention will be easily appreciated by the skilled workman.

EXAMPLE 1

Cross-linked amylose synthesis

1 kg of amylose and 6 l of sodium hydroxide 1N were homogenized for 20 minutes in a Hobart™ planetary mixer tank A-200T at 55° C. Subsequently, 60 g (50.8 ml) of epichlorohydrin were added. After 20 minutes of homogenization, the mixture was neutralized with acetic acid, and the cross-linked amylose was filtered and washed with a solution of water/acetone (15:85) in a first step and then with water/acetone (60:40). The CLA was dried with acetone and then allowed to stand for 3 hours. The dry polymer was sieved (mesh openings of 75–297 μm) and stored at room temperature. The cross-linking degree of this polymer being 6, it will be further referred to as CLA-6.

Other CLA polymers with cross-linking degrees of 1, 4, 12 and 20 were synthesized in similar conditions, that is, 4, 12 and 20 g epichlorohydrin/100 g of amylose.

EXAMPLE 2

Tablets containing theophylline as the active agent

Powders of theophylline, α-amylase and CLA-6 as obtained in Example 1 were mixed during three minutes, in a Turbula™ mixer in such proportion as to obtain CLA-6 tablets containing 100 mg of theophylline each, and amounts of α-amylase in the range 0–5 mg, the remainder being CLA-6. The tablets (thickness=2.7 mm; diameter=13 mm and weight=500 mg) were obtained by direct compression at more than 2.4 T/cm², in a Carver™ hydraulic press. The enzyme used is pancreatic α-amylase, manufactured and sold by Sigma Chem. Co., St-Louis, Mo., and possesses a specific activity of 5 EU/mg protein. The activity of the enzyme was verified prior to the preparation of the tablet containing same. The release profile of these tablets is illustrated in FIG. 1.

EXAMPLE 3

Tablets containing 4-acetaminophenol (Acetaminophen) as the active agent

Tablets of 500 mg, each made of CLA-6 containing 100 mg of 4-acetaminophenol and 0, 1, 2, 3 or 5 mg of α-amylase respectively, were prepared in the same manner as in Example 2. The release profile of these tablets is illustrated in FIG. 2.

6

EXAMPLE 4

Tablets containing acetanilide as the active agent

Tablets of 500 mg, each made of CLA-6 containing 100 mg of acetanilide and 0, 1, 2, 3 or 5 mg of α-amylase respectively, were prepared in the same manner as in Example 2. The release profile of these tablets is illustrated in FIG. 3.

EXAMPLE 5

Drug release monitoring and in vitro drug release results

Each tablet is placed in 1 l of NaHPO₄/Na₂HPO₄ buffer (100 mM, pH 7.0 at 37° C.). In all the examples, the drug release is monitored in a USP dissolution apparatus equipped with a mechanical stirrer (100 rpm). The release is recorded spectrophotometrically at an appropriate wavelength (theophylline λ=290 nm, acetaminophen λ=280 nm and acetanilide λ=270 nm) with a Beckman DU-65 spectrophotometer.

In all the cases, it is clear that it is possible to modulate the release time of the drug by varying the enzymatic activity (number of Enzyme Units) of the α-amylase associated with the matrix, i.e. the amount of α-amylase in the tablet. For the pharmaceutical products chosen to illustrate the advantages of the present invention, in the absence of α-amylase the release times were of 30 hours for the theophylline (FIG. 1), 25 hours for the acetaminophen (FIG. 2) and 23 hours for the acetanilide (FIG. 3).

In the presence of increased amounts of α-amylase (0, 1, 2, 3 and 5 mg/tablet) the release times decrease regularly (FIG. 4) following a dose to logarithmic feature.

The release fractions (M/M_∞) versus the α-amylase curves indicate the same dependency, irrespective to the nature of the drug (provided obviously that no interactions drug—α-amylase occur). FIGS. 1–4 illustrate that for a given pharmaceutical drug, the release time can easily be modulated with enough precision, by means of varying the content of α-amylase in the tablet. Control experiments with tablets prepared in accordance with Examples 2 to 4 without α-amylase, but containing 15 mg of Bovine Serum Albumin (BSA) indicated a very similar dissolution profiles as for the corresponding tablets without BSA and without α-amylase (FIGS. 1–3). In other words, BSA has no effect on the release profile of the active agents. Accordingly, these results show that the beneficial effect of α-amylase is not due to a modification of the tablet content, which means that the modulation of the release time is exclusively due to the α-amylase kinetics.

The new Enzyme Controlled Drug Release (ECDR) herein presented based on the associated α-amylase with the CLA matrix within the tablet, is different from the External Bioerosion approach as release controlling system. The bioerosion mechanisms are based on the action of the external constituents (enzymes, ions, etc.) of the dissolution medium (e.g. gastric fluids) to generate gradual erosion of the tablets starting with the marginal layers. It is well known that these systems imply serious individual variations. The ECDR mechanism is based on internal enzymatic attack, initiated and conditioned by the water front penetration. The hydration and the CLA matrix swelling are controlled by the interchain hydrogen associations created by the compression of the cross-linked amylose during the preparation of the tablets.

Therefore, the drug release mechanism proposed in the present application is the result of two separate actions closely related to one another:

- 1) the hydrogen association, which control a slow equilibrium process of amylose-amylose hydrogen links dissociations and amylose-water association, generating the amylose hydroxyl groups hydration and the matrix swelling; and
- 2) Enzyme Controlled Drug Release: once low amounts of water penetrate the matrix, the α -amylase is gradually activated, thus controlling a limited enzymatic hydrolysis of α -1,4-glucosidic bonds of the CLA matrix.

The chains are therefore partially nicked, since the points of lysis are statistically distanced, in function of the α -amylase activity and the water penetration. The lysis doesn't lead necessarily to a massive breakdown of the matrix structure and to the excision of the oligosaccharidic fragments since the cross-linked amylose chains are articulated in a three-dimensional structure by multipoints cross-linking (several glucose units of vicinal amylose chains are simultaneously implied in the cross-linking by the cross-linking agent reaction).

For instance, even when submitted to a partial lysis, cross-linked amylose can be viewed as a global three-dimensional structure where at the level of nicking points, oligoglucidic fragments are still retained as "hinge joints" by the matrix, becoming mobile and hydrated, allowing the release of the drug. Enzymatic dosages, infrared and X-ray data as well as calorimetric studies support these considerations. As far as the α -amylase mechanism of action is concerned, despite the fact that the cross-linked amylose is in a solid phase and chemically modified, the general enzyme kinetic rules apply, with the mention that the enzyme is not saturated with water, which is the case for general hydrolytic enzyme reactions in aqueous medium, but saturated with the solid substrate, namely cross-linked amylose. With the gradual penetration of the water acting as the second substrate, the enzyme initiates its catalytic activity. The velocity of the enzymatic hydrolysis increases with the gradual water front penetration, according to the Michaelis-Menten kinetic theory, explaining the slight increase of the slope of the release curves (FIGS. 1-3) after a few hours of immersion into the dissolution medium. Although the general aspect of the release curves is dose to linear, this slightly sigmoidal feature clearly indicates that most probably there are two mechanisms implied in the enzymatically controlled drug release from the cross-linked amylose matrix.

The association of the α -amylase with a CLA matrix creates conditions of α -amylase substrate saturation (for example 395-400 mg CLA-6 compacted with 5 mg or less of α -amylase into a tablet having a dry volume of 0.4cm³). Therefore, unique kinetic conditions are accomplished for an effective control of the drug release, such as to obtain a required release time. These kinetic parameters also substantially differentiate our approach from the external bioerosion. These differences are illustrated by a comparative experiment, the results of which are presented in FIG. 5, where acetanilide (an antipyretic) was chosen as a tracer. The release curves were recorded for tablets of 500 mg containing 400 mg of CLA-6 and 100 mg of acetanilide, in the dissolution medium (sodium phosphate buffer, pH 7) containing increasing α -amylase concentrations (0-1200 mg/l, corresponding to 0-6000 EU/l), simulating thus the external bioerosion. The dissolution curves indicated that similar effects on the release time as for the α -amylase associated to the matrix (1 mg α -amylase/tablet in 1 l dissolution medium) can be obtained only with an α -amylase activity of at least 600 times higher (600 mg α -amylase in 1 l dissolution medium, corresponding to 3000 EU/l). This

difference clearly indicates that the kinetic mechanisms are substantially different.

It is well known that, in agreement with the enzyme kinetic rules, a linear dependency of the reaction rate can be accomplished only in conditions of enzyme saturation with substrate. Consequently, ensuring the enzyme saturation, the procedure adopted in the present application allows the modulation of the release time, via the α -amylase activity within the tablet, in function of therapeutic requirements. The external bioerosion system is unable, in similar conditions with the cross-linked amylose tablets, to ensure the enzyme saturation with the substrate and consequently, unable to allow the modulation of the release time. Furthermore, it is worth mentioning that for normal subjects, the level of pancreatic α -amylase is lower than 120 EU/l. In other words, at this physiologic level, there are no significant differences induced by the α -amylase on the drug release kinetics. Therefore, the control of the release of the drug is entirely due to the α -amylase associated with the cross-linked amylose matrix within the tablet.

What is claimed is:

1. A solid controlled release pharmaceutical dosage unit in the form of a compressed mixture consisting essentially of: up to 60% by weight of a therapeutically effective product;

at least 40% by weight of amylose cross-linked with a cross-linking agent selected from the group consisting of epichlorohydrin and 2,3-dibromopropanol, wherein said cross-linked amylose is prepared by cross-linking amylose with from 1 to 20 grams of said cross-linking agent per 100 grams of amylose, and wherein said cross-linking provides sustained release of said therapeutically effective product; and

an enzyme for modulating the release of the pharmaceutical product, said enzyme being an α -amylase present in an amount corresponding to an enzyme activity of 100 EU or less per dosage unit.

2. The pharmaceutical dosage unit of claim 1, wherein the enzyme is present in an amount corresponding to an enzyme activity of 100 EU per tablet or less.

3. The pharmaceutical dosage unit of claim 1, wherein the cross-linking agent is epichlorohydrin.

4. A solid controlled release pharmaceutical dosage unit according to claim 1, wherein the release time of the solid controlled release pharmaceutical dosage unit containing the α -amylase is about 15 to 24 hours.

5. A solid controlled release pharmaceutical dosage unit according to claim 1, wherein the release time of the solid controlled release pharmaceutical dosage unit containing the α -amylase is 6 to 12 hours.

6. A solid controlled release pharmaceutical dosage unit according to claim 3, wherein the release time of the solid controlled release pharmaceutical dosage unit containing the α -amylase is about 15 to 24 hours.

7. A solid controlled release pharmaceutical dosage unit according to claim 3, wherein the release time of the solid controlled release pharmaceutical dosage unit containing the α -amylase is 6 to 12 hours.

8. The pharmaceutical dosage unit of claim 3, wherein the cross-linking is carried out with about 6 grams of epichlorohydrin per 100 grams of amylose.

9. The pharmaceutical dosage unit of claim 1, wherein said compressed mixture is in the form of a tablet.

10. The pharmaceutical dosage unit of claim 9, wherein said tablet is prepared by direct compression in a press at more than 0.5 T/cm².

* * * * *

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

5.2. Cross-linked amylose tablets containing α -amylase: an enzymatically-controlled drug release system

Dumoulin Y., Cartilier L. H. et Mateescu M. A.

J. Control. Rel.

Accepté et sous-presse

Cross-linked Amylose tablets containing α -amylase: an enzymatically-controlled drug release system

Yves Dumoulin⁺, Louis H. Cartilier⁺ and Mircea A. Mateescu^{*}

⁺Faculty of Pharmacy, University of Montreal,
C.P. 6128, Succ. Centre-Ville, Montreal (Quebec) Canada H3C 3J7

^{*}Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal,
C.P. 8888, Succ. Centre-Ville, Montreal (Quebec) Canada H3C 3P8

ABSTRACT

An oral controlled release system based on direct compression of cross-linked Amylose (CLA) and drug powders was previously introduced. For drugs with limited solubility or for some drugs for which solubility can be influenced by variation of gastro-intestinal pH, a system is required to accelerate drug release. This paper describes a novel enzymatically-controlled drug release (ECCR) system based on the addition of α -amylase to CLA tablets, which can modulate the release kinetics of drugs. The α -amylase within the tablets is able to hydrolyze α -1-4-glucosidic bonds present in the CLA semisynthetic substrate. Increasing amounts of α -amylase (5 to 25 EU) within the tablets induced a significant decrease in release time from 24 to 6 hours. High amounts of external α -amylase (300-6,000 EU/L) had a slight effect on the release rate. Drug release from the ECCR system seems to be controlled by two sequential mechanisms: a) hydration and swelling of CLA tablets followed by b) internal enzymatic hydrolysis of the hydrated gel phase.

Key words: Cross-linked amylose, α -amylase, Controlled release, Tablet, Hydrogel.

INTRODUCTION

The search for improved therapy and patient compliance has led to the development of new pharmaceutical dosage forms allowing the control of drug release. In this context, many systems based on release controlled by polymer swelling, by drug diffusion or by polymer erosion have been proposed. An erodible controlled release system may involve physical and/or chemical degradation of polymers. Most of the physical erodible systems are based on homogenous erosion of the polymer matrix. Chemical erosion mechanisms may involve ionization, protonation, solubilization or enzymatic degradation of the polymers [1-3].

A potential disadvantage of biodegradable polymers is the eventual toxicity following absorption of the degraded products. Polysaccharidic biodegradable matrices are of interest since the degradation of a natural product like starch occurs naturally in the human body [3].

Starch is composed of two distinct fractions: amylose is the non-ramified fraction containing about 4,000 glucose units, and amylopectin is the branched fraction containing about 100,000 glucose units. Starch and cross-linked starch obtained by treatment with reagents like epichlorohydrin, adipic anhydride, etc. are widely and safely used with the agreement of the Food and Drug Administration (FDA) in the food (thickener, enhancer of organoleptic properties, texture modifier, etc.) and pharmaceutical industries (filler, binder, disintegrant). Starch is naturally hydrolyzed by several amylolytic enzymes. α -Amylase is an endoenzyme specific to α -(1,4)-D-glucopyranosidic bonds located within polyglucose chains. The degradation product of starch amyolysis is mainly composed of oligosaccharides, dextrans and maltose [4].

Alpha-starch (pregelatinized starch) and cross-linked starch have been used as hydrogels [3, 5, 6]. It has been reported that increasing the degree of cross-linking of

starch decreases the drug release rate. The release rate is also dependent on α -amylase activity contained in the dissolution media [3].

Cross-linked Amylose (CLA) has been previously introduced as a new polymeric material in the drug controlled release field under the trade mark of Contramid®. CLA is obtained by epichlorohydrin treatment of high amylose starch (70% of amylose). CLA of different degrees of cross-linking can be obtained as a function of the amylose/epichlorohydrin ratio in alkaline media under previously-described conditions [7].

Tablets are prepared by direct compression of the dry mixture of CLA and drug powders. It has been found that increasing the degree of cross-linking of amylose generates an increase of drug-release time, with maximal values for low degrees of cross-linking (CLA-3 up to CLA-6). An hypothesis has been advanced that moderate cross-linking of amylose leads to a reduced frequency of glycerine bridges (introduced by epichlorohydrin reaction) and allows the matrix to be stabilized in proper conformation. At higher degrees of cross-linking, with a high density of glycerine bridges, the mobility and ability of the amylose chains to associate and to form an adequate water gel barrier are limited. The CLA matrix allows close to linear release kinetics for periods of 15-24 hours or even longer for some types of therapeutic agents. There are various types of drugs with lower aqueous solubility, giving total release times longer than 40 hours. However, for oral administration, release times higher than 20-24 hours are not worthwhile. A system that can accelerate the release rate is required for these drugs.

It has previously been demonstrated that amylose gels, chemically modified with epichlorohydrin, can still be recognized as a substrate by α -amylase and can still be biodegradable, depending on the degree of cross-linking [8]. An enzymatically-

controlled drug release (ECCR) system has been proposed [9]. The system consists of dosage forms containing α -amylase and drugs within CLA tablets. The ECCR system allows, for some drugs, a large range of release times which can be modulated as a function of the activity of α -amylase included in the CLA matrix.

In this paper, the effect of α -amylase on the drug release profiles of CLA tablets has been investigated. Release profiles of CLA tablets containing α -amylase dry mixed with drugs before direct compression were studied. The influence of external α -amylase in the dissolution medium on release rates was also studied.

MATERIALS AND METHODS

CLA synthesis

The polymer used in this study is CLA-6 (obtained by the addition of 6 g of epichlorohydrin to 100 g of high amylose starch, containing 70% of amylose).

One kg of high amylose corn starch (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, U.S.A.) and 6 L of sodium hydroxide 1N (55°C) were mixed in a Hobart® A-200 T planetary mixer. After gelatinization, a volume of 50.8 mL of epichlorohydrin (Sigma Chemical Co.) corresponding to 60 g (density 1.19 g/mL) was added. The reaction mixture was continuously homogenized for 45 minutes and then neutralized with acetic acid. The CLA-6 gel suspension was thoroughly washed on a Büchner funnel with a solution of water/acetone (60:40). The CLA-6 was dried by repeated treatments with acetone and then exposed overnight to air. The dry polymer was sieved and the 75-297 μm fraction was retained and stored under room conditions in hermetic glass bottles.

In order to control batch-to-batch variability, X-ray diffraction studies, Fourier Transformed Infra-Red analysis [10], the release of a standard drug (acetaminophen) and water uptake studies [11] are carried out.

Manufacture of CLA tablets containing α -amylase

Acetaminophen, acetanilide and theophylline were chosen as model drugs. Pancreatic porcine α -amylase (Sigma Chemical Co.) with a specific activity of 5 EU/mg protein was used. However, it is also possible to use an α -amylase from bacterial origin, currently used in the food industry and recognized as GRAS (Ban 240, Novo Nordisk). α -Amylase enzyme activity was determined according to the reductometric method [12] with 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS). One enzyme unit is defined as the amount of

enzyme able to catalyze the hydrolysis of α -1,4-glucosidic links with the release of 1 μ mole of reducing sugar/min.

The drug, α -amylase and CLA-6 powders were dry mixed in a Turbula® mixer prior to compression at 2.4 T/cm² in a Carver® hydraulic press. Tablets of 500 mg (thickness: 2.7 mm; diameter: 13.0 mm) containing 100 mg of drug and different quantities of α -amylase (1 to 5 mg) were prepared.

***In vitro* drug release monitoring**

The tablets were placed individually in a dissolution flask containing 1 L of NaHPO₄/Na₂HPO₄ buffer (100 mM, pH = 7, 37 °C). The drug dissolution rate was monitored in a USP XX N° 2 Hanson dissolution device (rotating paddle, 100 rpm) and release data were recorded at 290 nm for anhydrous theophylline, with a Model DU-65 Beckman spectrophotometer equipped with a dissolution data system. The same procedure was applied for acetaminophen and acetanilide, except for the wave lengths which were respectively set at 280 nm and at 270 nm. In the case of enzyme-free CLA-6 tablets, the drug release data were analyzed using the following equation:

$$M_t/M_\infty = k t^n$$

where M_t is the amount of drug released at time t , M_∞ is the total amount of drug released, k is the kinetic constant and n is a constant characteristic of the drug release mechanism [13].

RESULTS AND DISCUSSION

Previous dissolution data with CLA tablets [7] showed that long dissolution times were obtained for a low degree of cross-linking and that increasing the degree of cross-linking of amylose generated a non-linear increase of the drug release rate. This behavior is different from the general behavior of polyhydroxylic matrices for which an increase of cross-linking generates a decrease of the release rate. An hypothesis based on an insoluble gel phase, tightly maintained by hydrogen bonds, following water penetration limiting subsequent swelling and limiting water and drug diffusion, was advanced to explain the particular behavior observed for CLA tablets presenting a low degree of cross-linking [11, 14]. It is also thought that access of water generates heterogenous swelling, starting from the tablet surface.

In Figures 1-3, the release profiles of theophylline, acetaminophen and acetanilide from enzyme-free CLA-6 tablets are respectively compared to those from CLA-6 tablets containing α -amylase. Acetanilide was released in 25 hours (Figure 1), theophyllin (Figure 2) in 30 hours and acetaminophen in 23 hours (Figure 3). In the case of enzyme-free CLA-6 tablets, the release mechanism is anomalous (acetanilide: $n=0.79$ and $k=0.09$; theophyllin: $n=0.57$ and $k=0.16$; acetaminophen: $n=0.64$ and $k=0.15$), confirming previous results [7].

CLA-6 tablets formulated with α -amylase clearly showed different release profiles when compared with enzyme-free tablets made only with the drug and CLA-6. For all drugs, increasing the amount of α -amylase within tablets accelerated drug release. It is noteworthy that small amounts of α -amylase (5 to 25 EU) induced

significant modifications of drug release rates (Figure 4). Higher release rates were strictly related to α -amylase activity and not to an additional charge of the tablets with up to 15 mg of α -amylase as a hydrophilic protein. In fact, controls were produced with bovine serum albumin (BSA) and no alterations of release profiles were obtained (Figures 1-3).

As far as the enzymatic mechanism is concerned, it was previously shown that, despite the fact that the substrate is in a solid phase and chemically modified, α -amylase still recognizes CLA, and amylolysis follows general enzyme kinetic rules [15]. Within CLA tablets, α -amylase, which is a hydrolase, is not saturated with water but with the solid phase substrate, the enzyme being distributed within the matrix. Also, since a slight acceleration of the drug dissolution rate after 4 hours can be observed (Figures 1-3), it seems that enzymatic amylolysis is initiated and limited to the swollen layers of the tablets.

The introduction of 3 mg (15 EU) or more of α -amylase within the tablets significantly increased the release rate and modified the drug release profile. Furthermore, the effect of α -amylase on the drug release rate was much more significant when the enzyme was introduced into the tablet than when it was in the external dissolution medium. Acetanilide release profiles from enzyme-free CLA-6 tablets placed in dissolution media containing different α -amylase concentrations are presented in Figure 5. An increase of the drug release rate similar to that induced with only 10 EU within the tablet can be obtained with at least 6,000 EU in the dissolution medium. The total release time of acetanilide from enzyme-free CLA-6 tablets was reduced from 25 hours (obtained in a standard dissolution medium) to 19.5 hours when dissolution took place into medium containing 1,000 EU of α -amylase. The drug release profile, over a

range from 300 to 6,000 EU/L, was not substantially modified considering the amount of α -amylase within the medium.

The huge differences found in the absolute quantities of enzymes needed to obtain the same effect on the drug release rates must be critically evaluated in terms of accessible substrate. On one hand, tablets containing α -amylase trap active enzymes in a very limited space i.e. the swollen polymer network of the tablet, and thus the accessible reacting surface of the gel per enzyme unit is considerably high. On the other hand, when the enzymes are dispersed in the medium, only a part of the active enzymes are in contact with the external surface of the swollen gel; furthermore, it seems that access of the enzyme contained in the dissolution medium is limited to the external hydrated gel phase and cannot penetrate more deeply into the tablet. Thus, the biochemical and physico-chemical mechanisms involved in the external bioerosion and in the ECDR system are the same, but the reacting surfaces are totally different; this explains the differences in the absolute quantities of enzymes needed to observe the same effects and the similarities in the drug release sigmoidal profiles.

It is also interesting to note that an increase in α -amylase concentration decreases the differences in drug release rates observed for simple CLA matrices (Figure 4). For simple matrices, the drug release rate depends mainly of the diffusion of the drug through the gel layer, but a high concentration of enzymes leads to a predominant control of the drug release mechanisms by the erosion process. Of course, if the solubility and the intrinsic dissolution rate of the drug are high, its release will be so fast that it will not be useful or efficient to accelerate it through the erosion of the matrix by adding α -amylase in the tablet.

However, external bioerosion decreases tablet size (reducing the thickness of the gel phase in which the drug diffuses) and helps to get a closer to linear drug release

profile (pseudo-zero order) which is an advantage of CLA matrices when incorporating drugs with an adequate solubility. Furthermore, physiological concentrations of α -amylase are in the range of the *in vitro* concentrations studied [5] and *in vivo* tests demonstrated the adequacy of simple CLA matrix tablets for drug controlled release [16]. One must add that the tablet is not in contact with α -amylase during all the gastrointestinal transit, but only during the passage in the duodenum, thus 1-2 hours; this explains also the good *in vivo* results obtained for simple CLA matrices.

Hence, the ECDR mechanism with α -amylase within the tablet appears more like a homogenous rather than a heterogenous chemical bioerosion system. Heterogenous bioerosion mechanisms are usually based on the action of external constituents (enzymes, ions, etc.) of the dissolution medium (i.e. gastric juices), generating heterogenous erosion of the tablets, starting with the external layers. It is well-known that these systems generate a close to zero-order drug release profile but are also subject to serious individual differences [17].

The ECDR drug release mechanism is based on internal enzymatic attack initiated and conditioned by waterfront penetration. Therefore, it can be considered that the ECDR mechanism takes place in two subsequent steps:

1) Water penetration generating limited hydration and swelling of the CLA-6 tablet -

The establishment of an equilibrium process between amylose-amylose chain and amylose-water association, generating limited hydration of CLA-6 hydroxyl groups, which allows the formation of a gel barrier and contributes in part to the retardation of drug release and in part to the control of α -amylase activation;

2) Enzymatic control of drug release - Once low amounts of water penetrate the matrix, α -amylase is gradually solubilized and at the same time its amylolytic activity

starts in the gel phase of CLA-6 tablets. Internal hydrolysis of the tablet seems to increase gel permeability and may also create some microscopic holes and cracks in the gel barrier, leading to faster drug migration and water penetration. This is reflected in the sigmoidal drug release profile. The common action of drug diffusion and polymer erosion, seems to be more appropriate to describe the release mechanism obtained for the ECDR system.

The data presented here show that the ECDR system in which α -amylase is included within the CLA-6 tablet could be a useful technology in the particular case of molecules with limited solubility in aqueous media or for general drugs when a specific release time is required. Potential problems of α -amylase denaturation during the swelling at acidic pH in the stomach could be overcome by gastroresistant coating and/or addition of a buffer in the matrix; however, it is to be mentioned that the stomachal residence time is short and that this effect will thus be minor. Furthermore, based on toxicity data obtained for starch and starch derivatives [3], the CLA-6 matrix should present excellent biocompatibility.

CONCLUSION

The CLA - ECDR system obtained in tablet form after direct compression of the drug, CLA-6 and α -amylase powders can be used for drugs with reduced solubility. The CLA-6 tablets present low dependency towards moderate α -amylase concentration in the dissolution medium. The internal enzymic hydrolysis of CLA-6 tablets is initiated and conditioned by waterfront penetration and the release mechanism seems to correspond to the common action of drug diffusion and polymer erosion.

ACKNOWLEDGEMENTS

Yves Dumoulin is the recipient of a fellowship from NSERC Canada. Financial support from Rougier Inc. is gratefully acknowledged.

REFERENCES

1. J. Heller and R.W. Baker, « Theory and Practice of Controlled Drug Delivery from Bioerodible Polymers » in *Controlled Release of Bioactive Materials*, Ed. R.W. Baker, Academic Press, New York, (1980), p. 1-17.
2. J. Heller, « Use of enzymes and bioerodible polymers in self regulated and triggered drug delivery systems » in *Pulse and Self-Regulated Drug Delivery*, Ed. J. Kost, CRC Press, Boca Raton, (1990) p. 93-108.
3. J. Kost and S. Shefer, « Chemically-modified polysaccharides for enzymatically-controlled oral drug delivery », *Biomaterials*, **11**, (1990), p. 695-698.
4. C. G. Biliaderis, « The structure and interactions of starch with food constituents », *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **69**, (1991), p. 60-78.
5. M. Nakano, N. Nakazono and N. Inotsume, « Preparation and evaluation of sustained release tablets prepared with α -starch », *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, (1987), p. 4346-4350.
6. D. Trimnell, B. S. Shasha and F. H. Otey, « The effect of α -amylase upon release of trifluralin encapsulated in starch », *J. Control. Rel.*, **1**, (1985), p. 183-190.
7. V. Lenaerts, Y. Dumoulin and M. A. Mateescu, « Controlled release of theophylline from cross-linked amylose tablets », *J. Control. Rel.*, **15**, (1991), p. 39-46.
8. H. Schell, M.A. Mateescu, T. Bentia and A. Petrescu, « α -Amylase purification and separation from glucoamylase by affinity chromatography on cross-linked amylose », *Anal. Lett.*, **14**, (1981), p. 1501-1514.

9. M. A. Mateescu, Y. Dumoulin, L. Cartilier and V. Lenaerts, « Cross-linked polyhydroxylic material for enzymatically controlled drug release ». *US Patent no. 5,603,956*, (1997).
10. Y. Dumoulin, L. Cartilier, M. Preda, S. Alex, V. Lenaerts and M.A. Mateescu, « Cross-linked amylose as matrix for drug controlled release. X-ray and FT-IR analysis », *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **21**, (1994), p. 660-661.
11. I. Moussa and L. Cartilier, « Characterization of moving fronts in cross-linked amylose matrices by image analysis », *J. Control. Rel.*, **42**, (1996), p. 47-55.
12. G. Noelting and P. Bernfeld, « Diastatic enzymes. III. b-amylase: Determination of activity and control of absence of α -amylase », *Helv. Chim. Acta*, **31**, (1948), p. 286-290.
13. N. A. Peppas, « Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers », *Pharm. Acta Helv.*, **60**, (1985), p. 110-111.
14. I. Moussa and L. Cartilier, « The influence of cross-linking degree on drug dissolution, water uptake and swelling profiles of cross-linked amylose matrices », *Proc. 1st World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology APGI/APV*, (1995), p. 241-242.
15. M.A. Mateescu and H.D. Schell, « A new amyloclastic method for the selective determination of α -amylase using cross-linked amylose as an insoluble substrate », *Carbohydr. Res.*, **124**, (1983), p. 319-323.

16. V. Lenaerts, I. Moussa, Y. Dumoulin, F. Mebsout, F. Chouinard, P. Szabo, M. A. Mateescu, L. Cartilier, R. Marchessault., « Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances », *J. Control. Rel.*, **53**, (1998), p. 225-234.

17. C. D. Melia, « Hydrophilic matrix sustained release systems based on polysaccharide carriers », *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Systems*, **8**, (1991), p. 395-421.

FIGURES

Figure 1. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of acetanilide and 0 (■), 1 (○), 2 (●), 3 (□), 5 mg (▲) of α -amylase (5 EU/mg) or 15 mg (Δ) of bovine serum albumin/tablet. Dissolution experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C.

Figure 2. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of theophylline and 0 (■), 1 (○), 2 (●), 3 (□), 5 mg (▲) of α -amylase (5 EU/mg) or 15 mg (Δ) of bovine serum albumin/tablet. Dissolution experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C.

Figure 3. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of acetaminophen and 0 (■), 1 (○), 2 (●), 3 (□), 5 mg (▲) of α -amylase (5 EU/mg) or 15 mg (Δ) of bovine serum albumin/tablet. Dissolution experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37°C.

Figure 4. Total release time of 100 mg of theophylline (○), acetaminophen (■) and acetanilide (●) from CLA-6 tablets (500 mg) as a function of α -amylase tablet content.

Figure 5. Release profiles from CLA-6 tablets (500 mg) containing 100 mg of acetanilide as a function of α -amylase activities in the dissolution medium. The experiments were carried out in 1 L of 100 mM phosphate buffer, pH = 7.0 at 37 °C, containing 0 (○), 300 (■), 1000 (●), 2000 (□), 3000 (▲) and 6000 EU/L (Δ).

FIGURE 1

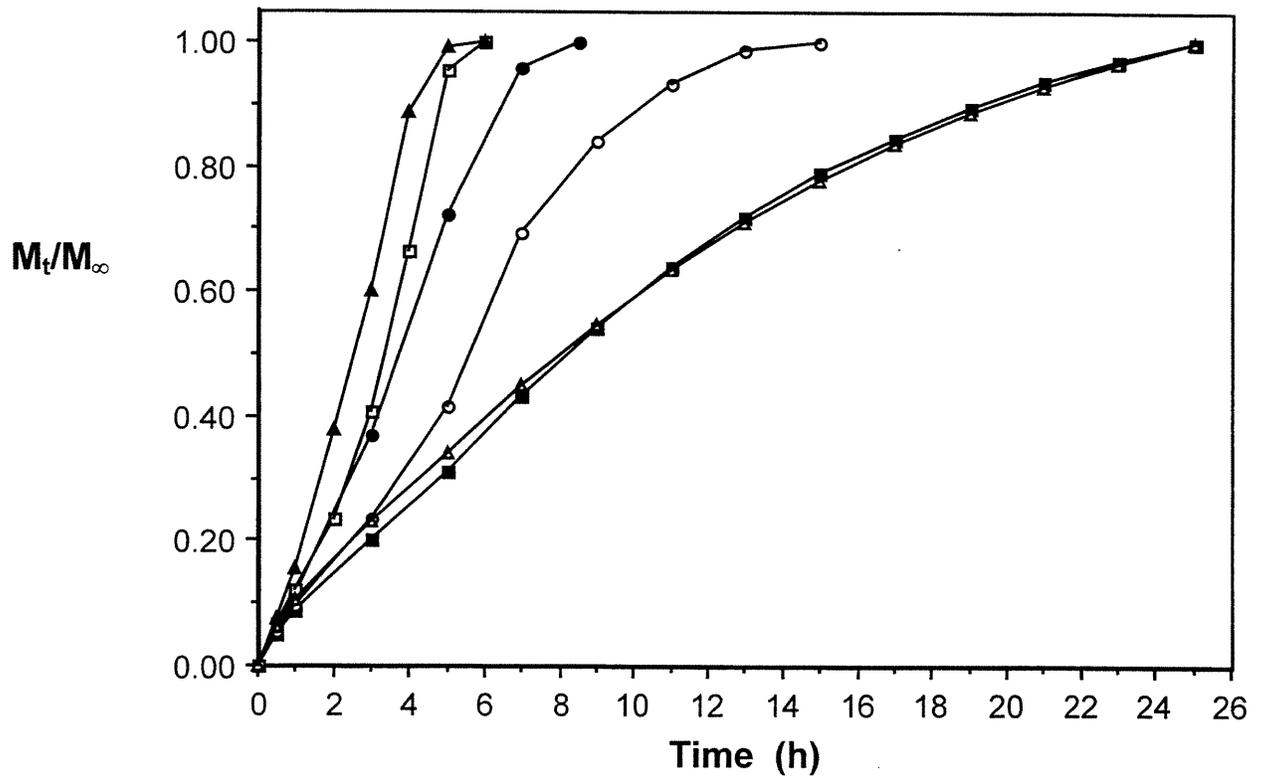


FIGURE 2

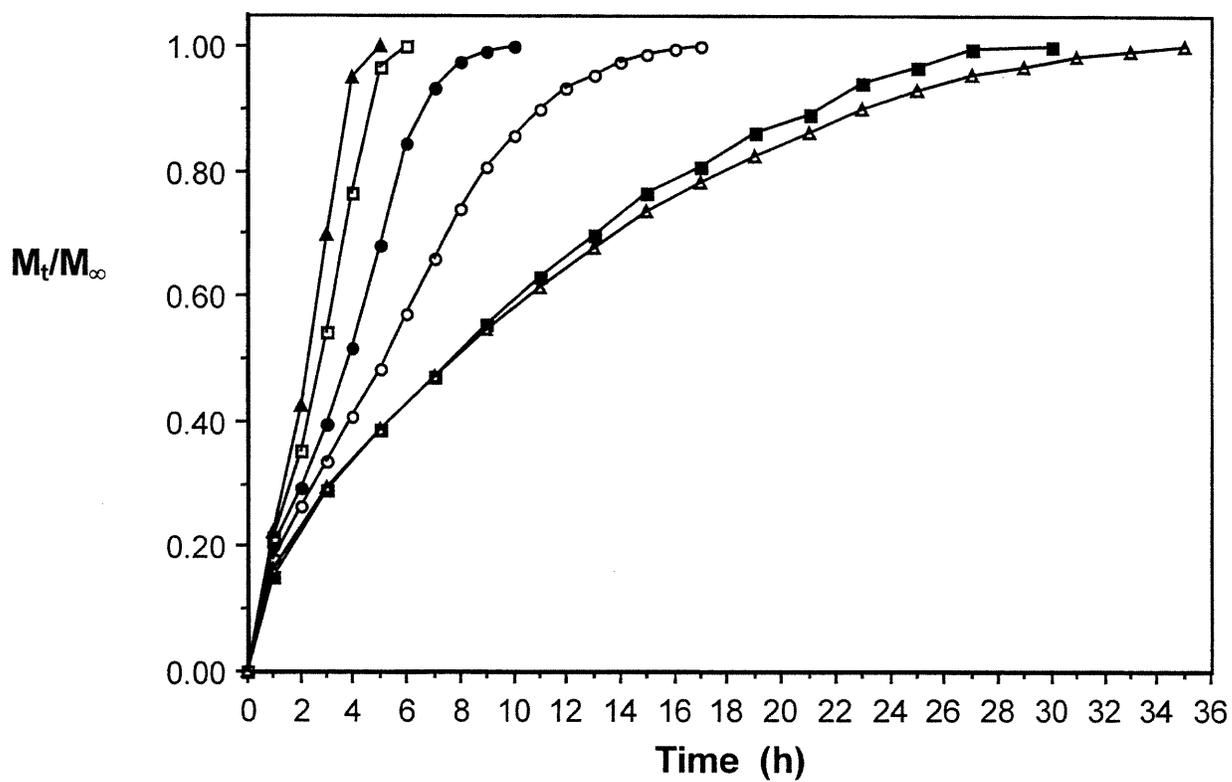


FIGURE 3

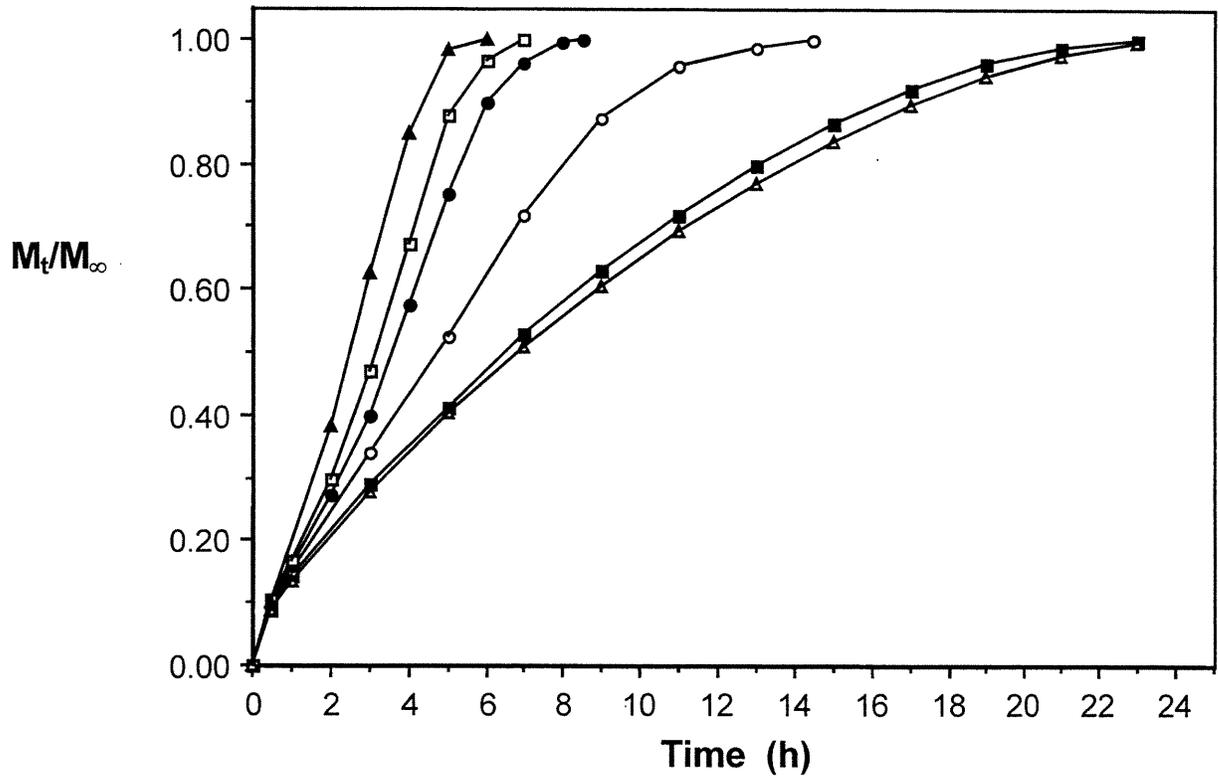


FIGURE 4

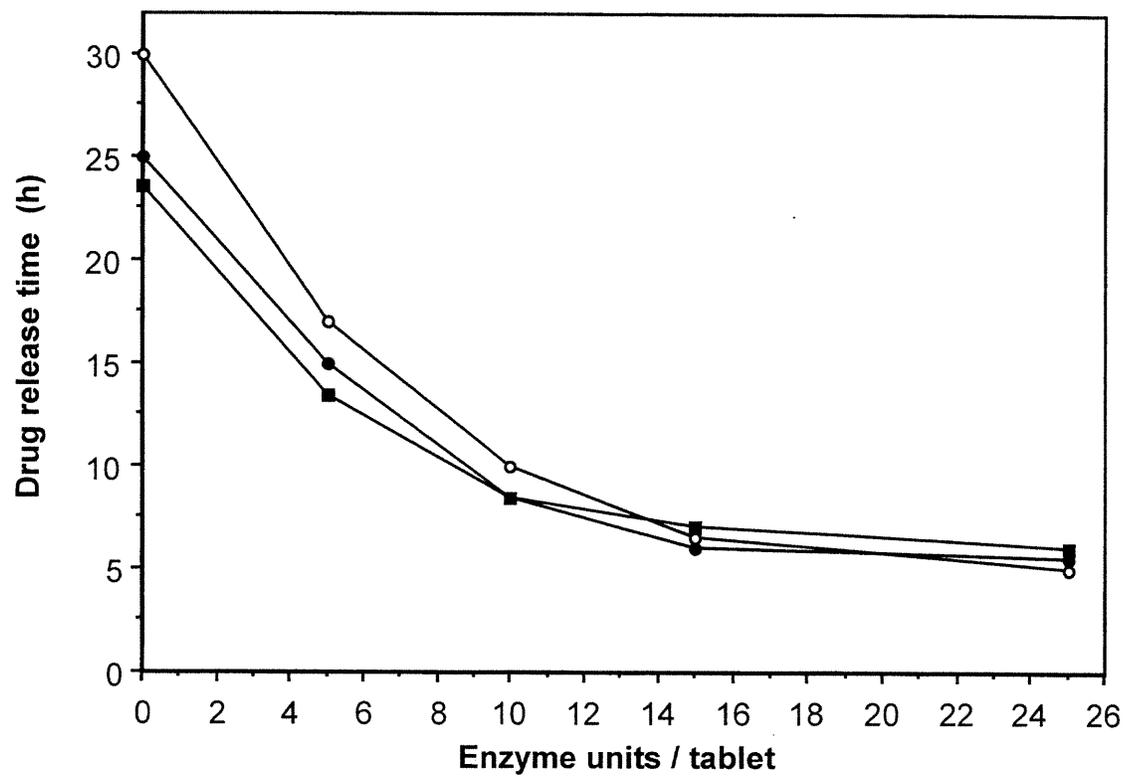
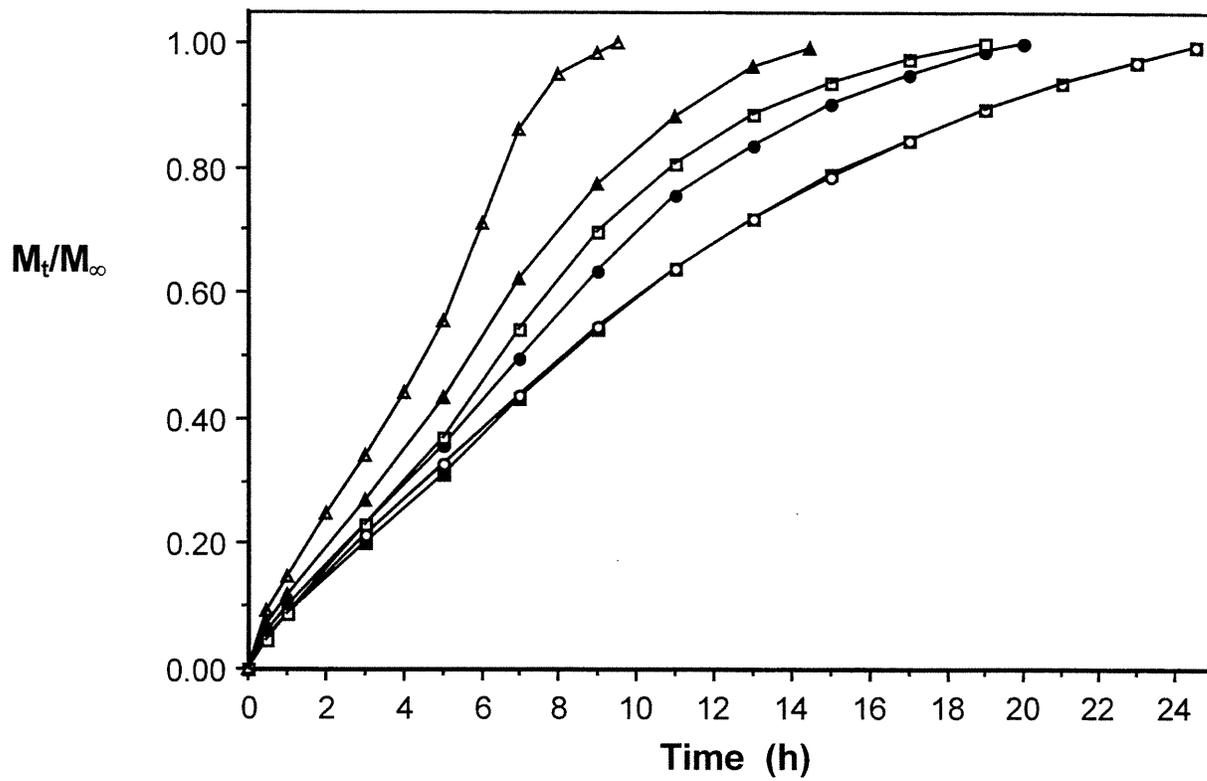


FIGURE 5



L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 6.0. UTILISATION DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ COMME AGENT LIANT ET DÉSINTÉGRANT

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

6.1. Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in tablets

Cartilier L., Mateescu M. A., Dumoulin Y. et Lenaerts V.

Brevet EU no. 5,616,343, (1997)

Accordé et publié

United States Patent [19]

Cartilier et al.

[11] Patent Number: 5,616,343

[45] Date of Patent: Apr. 1, 1997

[54] CROSS-LINKED AMYLOSE AS A
BINDER/DISINTEGRANT IN TABLETS[75] Inventors: Louis Cartilier, Beaconsfield; Mircea
A. Mateescu, Verdun; Yves Dumoulin,
Ste-Julie, all of Canada; Vincent
Lenaerts, Paris, France

[73] Assignee: Labopharm, Inc., Quebec, Canada

[21] Appl. No.: 37,119

[22] Filed: Mar. 25, 1993

[51] Int. Cl.⁶ A61K 9/20[52] U.S. Cl. 424/464; 424/493; 424/488;
424/479; 424/461[58] Field of Search 424/479, 461,
424/464, 465, 488, 474

[56] References Cited

U.S. PATENT DOCUMENTS

2,987,445	6/1961	Levesque	167/82
3,087,860	4/1963	Endicott	167/82
3,622,677	11/1971	Short et al.	424/361
4,072,535	2/1978	Short et al.	106/210
4,088,798	5/1978	Michaelis	427/3
4,230,687	10/1980	Sair et al.	424/22
4,344,968	8/1982	Aoda et al.	424/365
4,369,308	1/1983	Trubiano	536/106
4,713,249	12/1987	Schroder	424/488
4,755,397	7/1988	Eden et al.	427/213.3
4,761,289	8/1988	Shalati et al.	424/468
4,812,445	3/1989	Eden et al.	514/60

4,814,182	3/1989	Graham et al.	424/484
4,933,185	6/1990	Wheatley et al.	424/461
4,952,402	8/1990	Sparks et al.	424/419
5,108,758	4/1992	Allwood et al.	424/468

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

2041774	5/1992	Canada
0499648	1/1991	European Pat. Off.

OTHER PUBLICATIONS

Remington's Pharmaceutical Sciences 18th edition p. 1326.
 Brook et al., J. Pharm. Sci., 1968, 57, 481-484.
 Mateescu et al., Analytical Letters, 1985, 18, 79-91.
 Bolhuis, Pharm. Weekblad, 1973, 108, 469-481.
 Lerk et al., Pharm. ACTA Helv. 52, Nr. 3 (1977), 33-39.
 Analytical Letters, 14(B17 & 18), 1501-1514 (1981).
 Journal of Polymer Science: Polymer Physics Edition, vol.
 21, 983-997 (1983).
 Pharm. ACTA Helv. 55, Nr. 6 (1980).
 Pharm. ACTA Helv. 55, Nr. 7-8 (1980).
 Pharm. ACTA Helv. 56, Nr 4-5 (1981).

Primary Examiner—Thurman K. Page
 Assistant Examiner—William E. Benston, Jr.
 Attorney, Agent, or Firm—Foley & Lardner

[57] ABSTRACT

The present invention is concerned with the manufacture of solid dosage units (pharmaceutical and others). More specifically, the invention is related to powders of cross-linked amylose, having a specific cross-linking degree for use as tablet binders and disintegrants.

20 Claims, 7 Drawing Sheets

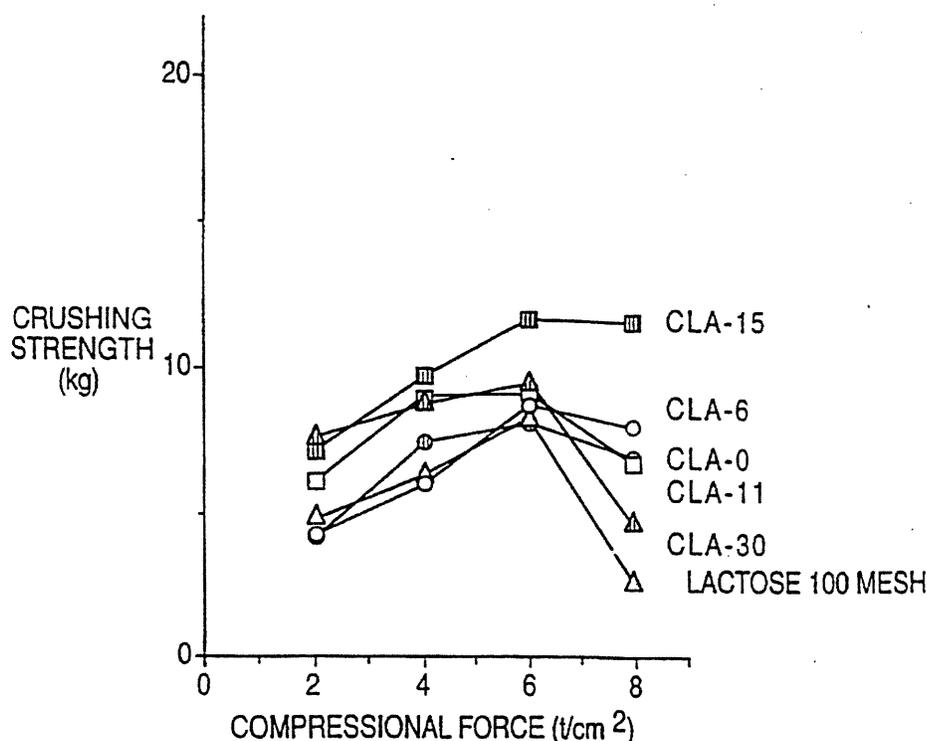


FIG. 1

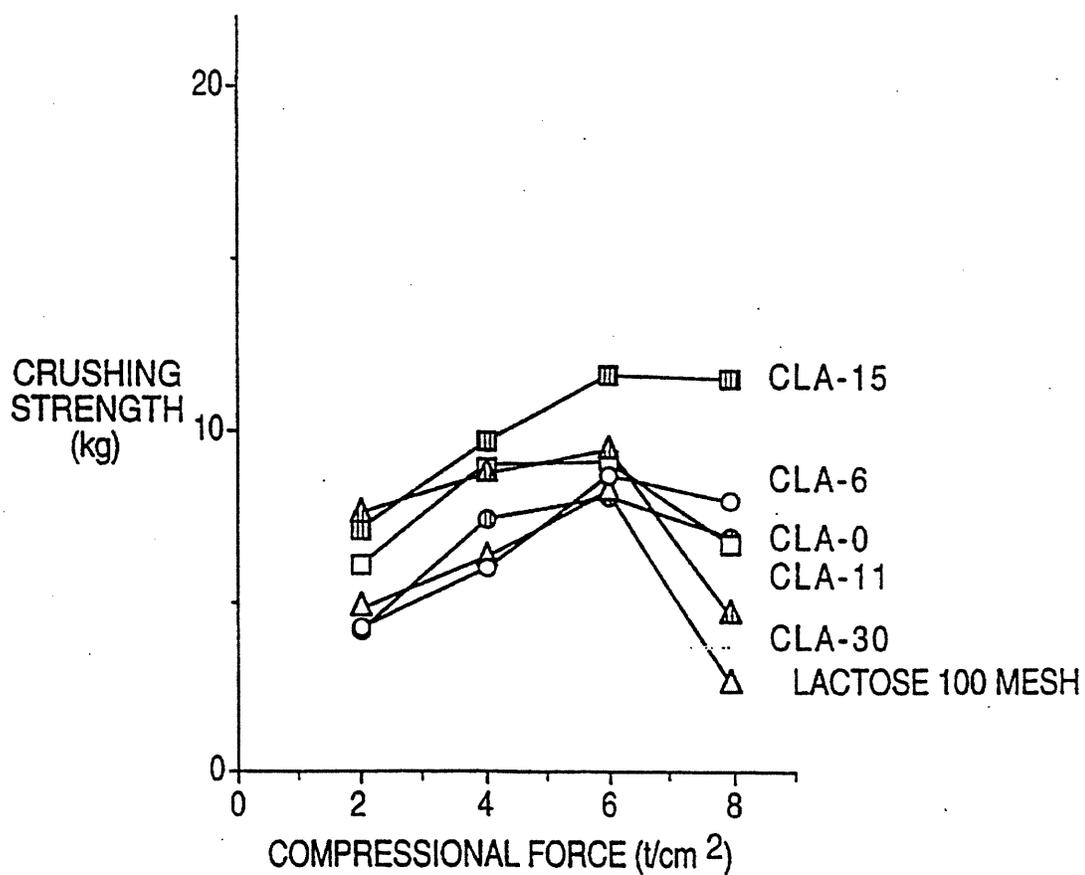


FIG. 2

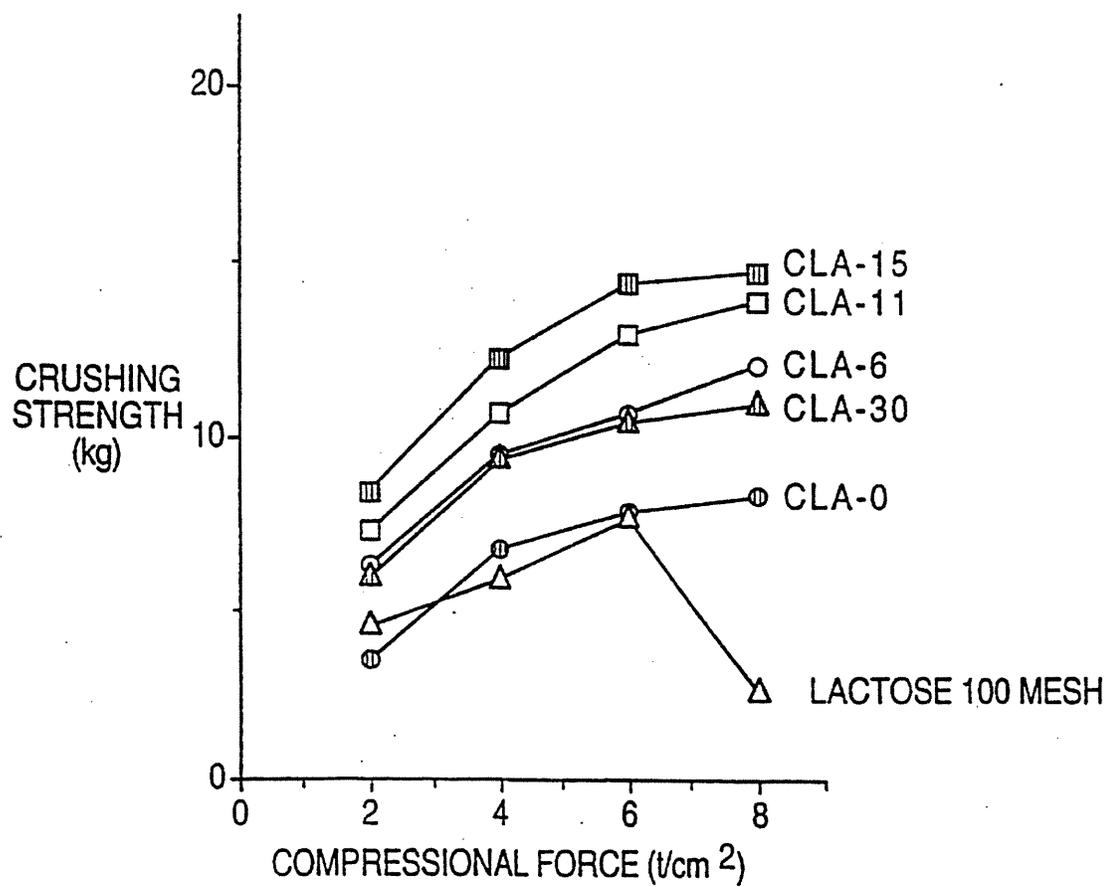


FIG. 3

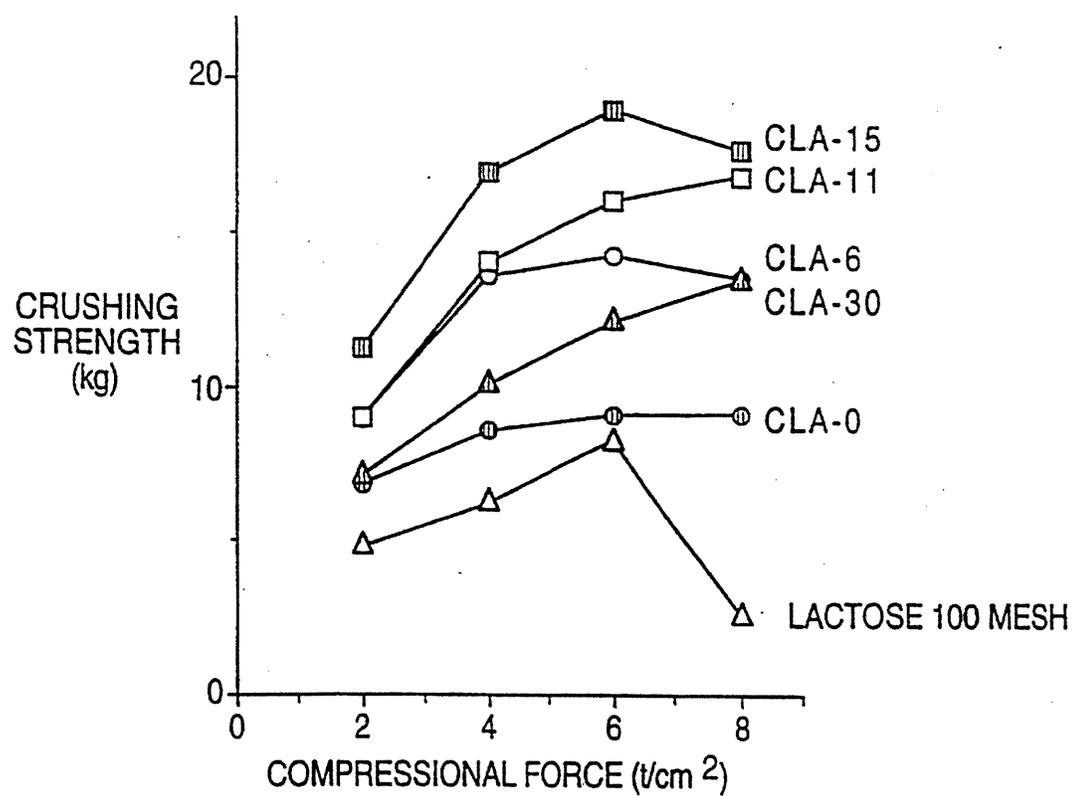


FIG. 4

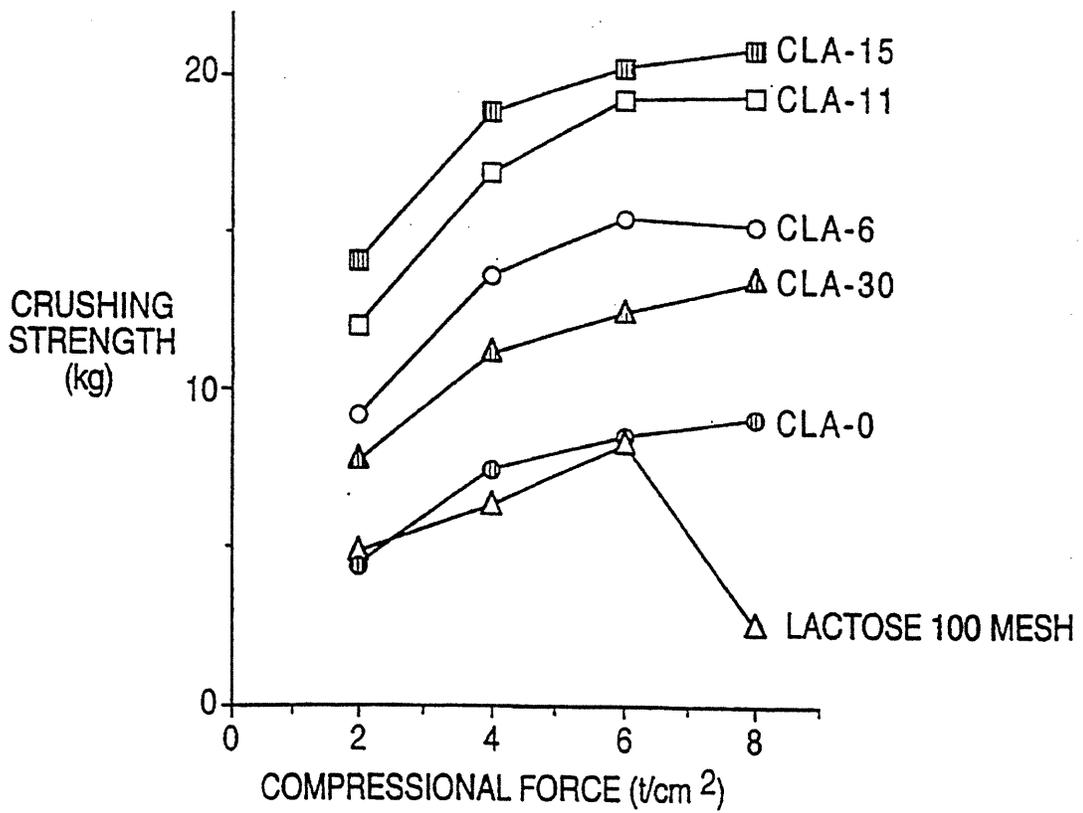


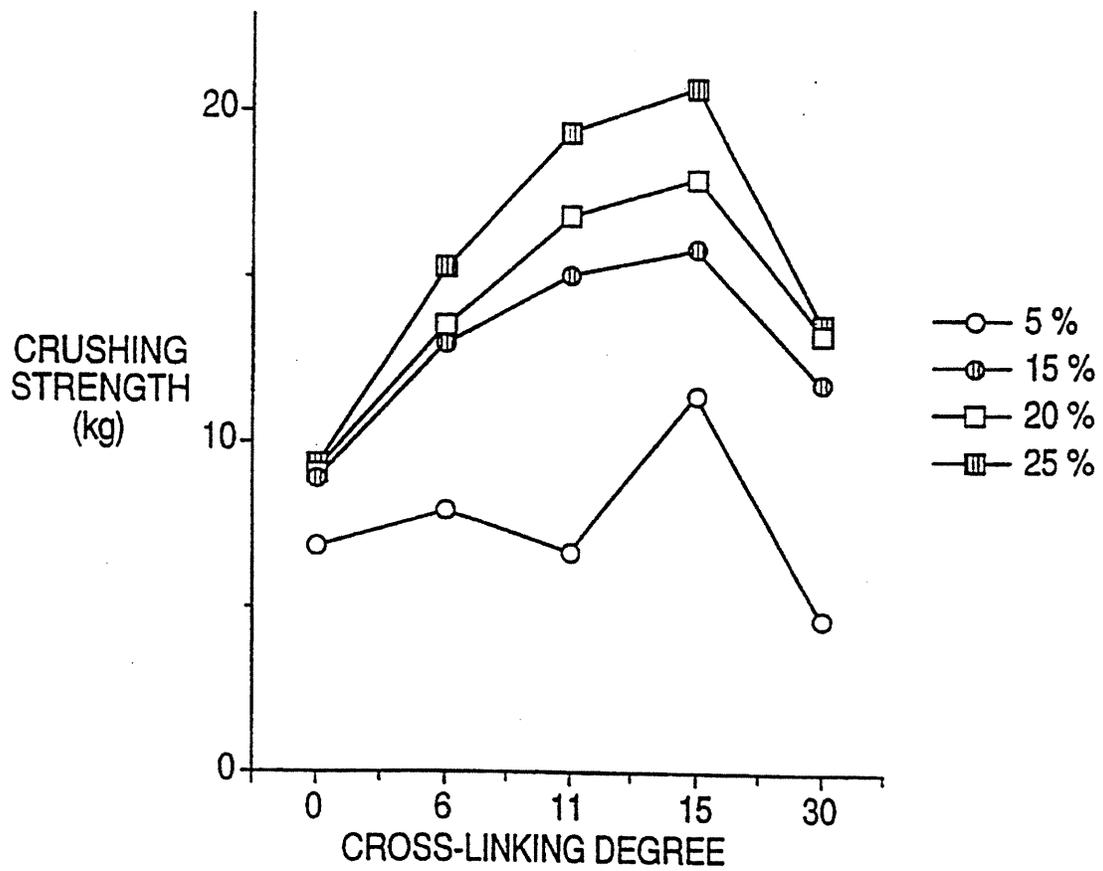
FIG. 5

FIG. 6

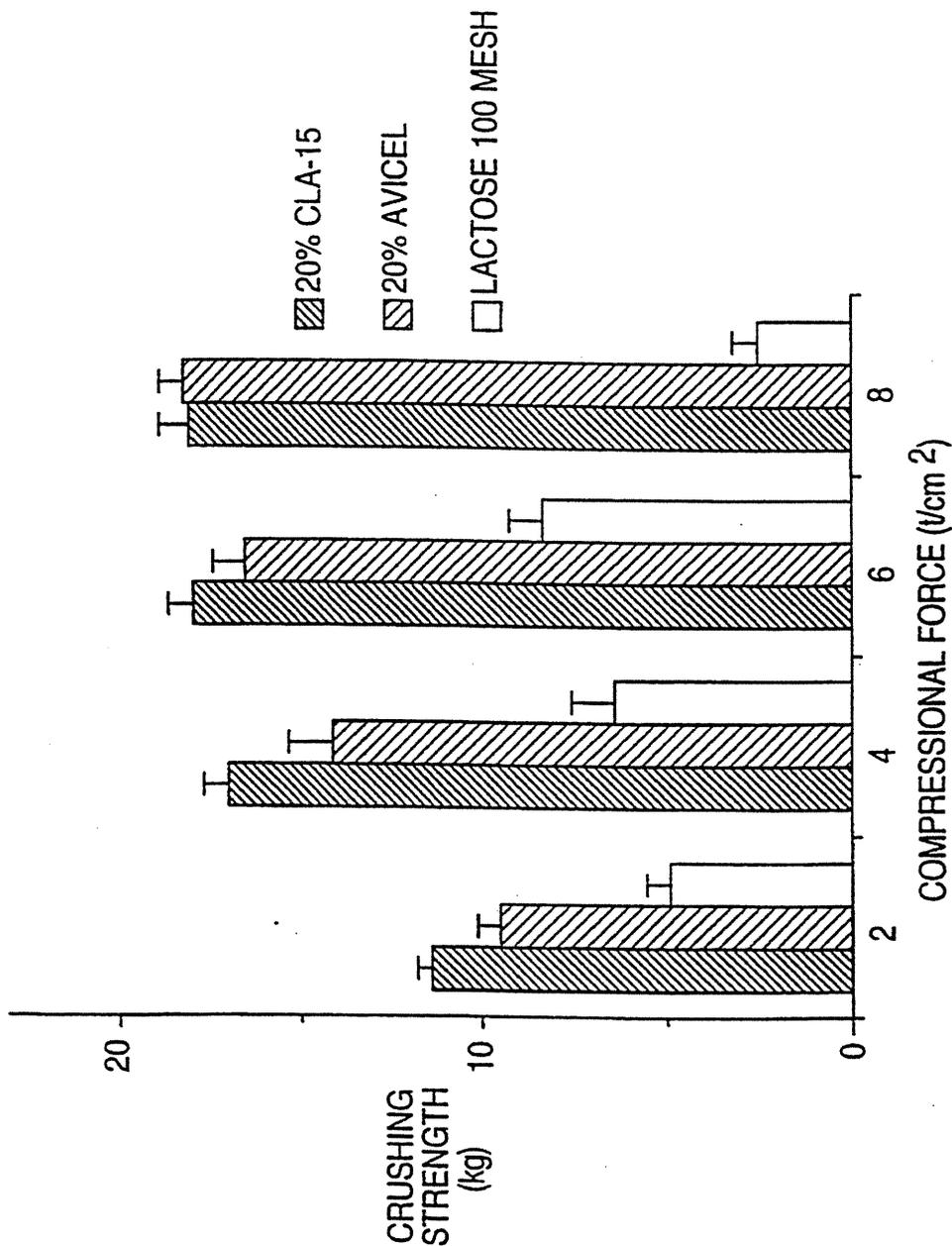
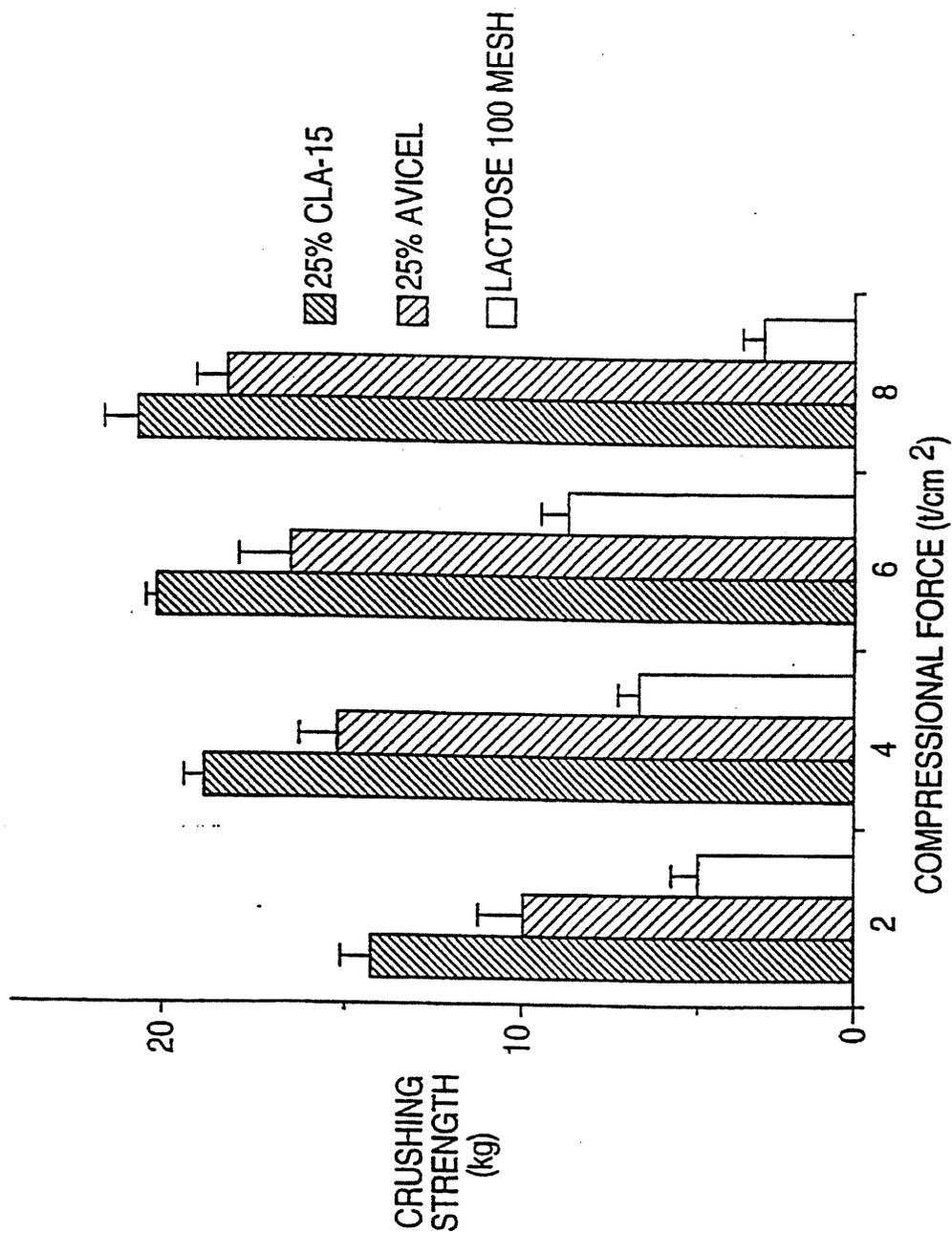


FIG. 7



5,616,343

1

CROSS-LINKED AMYLOSE AS A BINDER/DISINTEGRANT IN TABLETS

FIELD OF THE INVENTION

The present invention is related to powders of cross-linked amylose, having a specific cross-linking degree for use as a tablet binder and/or disintegrant, the tablets being prepared by direct compression.

BACKGROUND OF THE INVENTION

In the pharmaceutical industry, tablets appear to be the most advantageous form for the administration of a drug. Packaging and handling are normal operations onto which pharmaceutical products are submitted, which makes tablets the preferred choice. Additionally, tablets are frequently employed in non pharmaceutical fields such as fish foods, plant growth regulators, pesticides, herbicides and the like.

These tablets must show good mechanical qualities in view of the manufacturing process involved and the subsequent handling and packaging. The most important mechanical properties are the hardness and the resistance to friability. These features are closely related to one another since an increase in tablet hardness generally leads to a decrease in tablet friability. The term hardness describes the resistance of the tablet to stresses and strains of transportation and storage. Usually, one measures the crushing-strength defined as "that compressional force which, when applied diametrically to a tablet, just fractures it" (Brook et al. *J. Pharm. Sci.*, 1968, 57, 481-484). If the hardness of the tablet is insufficient i.e. when the crushing-strength value is too low, tablets are likely to break, especially during handling when they are subjected to repeated shocks. Furthermore, excessive friability may cause dusting and crumbling of the tablet, resulting in a diminution in active ingredient dosage and in a poor appearance of the tablet.

Thus, the manufacture of tablets involves the optimization of these two characteristics. If a quick release of the drug is desired, then the tablet must also possess acceptable disintegration characteristics both in vivo and in vitro.

The simplest and most economical procedure for the manufacturing of tablets is the direct compression of all the ingredients distributed homogeneously. The procedure i.e. the powder compression in a tablet puncher follows directly the dry blending of one or more active ingredients and at least one of the following: filler, binder, disintegrant and lubricant, and the like.

Materials such as sodium chloride, saccharose, salicylamide, hexamethylenetetramine and the like are readily directly compressed alone in dry form into a coherent and compact mass in a conventional tablet puncher. However, the majority of active ingredients require a binding agent to maintain the drug particles together in a tablet. Such binding agent increases the strength of the compressed tablet and decreases its friability, leading to an improvement in the tablet appearance and mechanical characteristics. An appropriate binding agent possesses flowing properties, can be blended easily and is inert and non-toxic. Conventional binders currently in use include: microcrystalline cellulose (Avicel PH-101™ and PH-102™) polyvinylpyrrolidone (Kollidon™, Plasdone™), cornstarch, wheat starch, potato starch, modified starches, gums, and the like. All these products are usually employed in direct compression at a minimum concentration level of 20%.

2

Disintegration rate is important when the tablet is contacted with fluids such as body fluids. Tablets should immediately fall apart into distinct particles whenever the drug is to be released very quickly. They must disintegrate rapidly enough to provide adequate blood levels of drug.

If quick disintegration of the tablet is required, disintegrants are added. An effective disintegrant is an agent that promotes destruction of the tablet physical integrity. Typical disintegrants are: corn starch, gelatinized starches (Sta Rx™), modified starches e.g. sodium starch glycolate (Primojel™).

Co-pending application U.S. Ser. No. 787,721 filed Oct. 31, 1991 discloses cross-linked amylose having a cross-linking degree of 1 to 10, which possesses controlled release properties when mixed with a pharmaceutical product. However, such controlled release properties are observed only if the amount of cross-linked amylose is above 40% by weight in the tablet.

Short et al. (U.S. Pat. No. 3,622,677) discloses a binder/disintegrant constituted of modified and/or cross-linked starch. However, the binding properties of their materials are considerably low, which means that a significant amount of the binder needs to be present in the tablet.

Trubiano (U.S. Pat. No. 4,369,308) describes modified starches for use as disintegrant. These starches however have poor binding properties.

Some materials, for example microcrystalline cellulose (Avicel PH 101™ and Avicel PH 102™) present binding and disintegrating characteristics of both binders and disintegrants. Despite the existence of many binders and disintegrants, pharmaceutical researchers have continued their efforts to develop improved materials capable of being employed as a binder and/or as a disintegrant in the preparation of tablets by direct compression.

SUMMARY OF THE INVENTION

In accordance with the present invention, there is now provided an improved binder for the manufacture of tablets. The binder of the present invention also acts as a disintegrant. More specifically, the binder of the present invention consists in cross-linked amylose having a cross-linking degree of from 6 to 30. The binder can be used in the manufacture of tablets by conventional techniques such as direct compression.

Tablets comprising the above binder also fall within the scope of the present invention, and may be chewable tablets. The concentration of cross-linked amylose in the tablet must be lower than 35% by weight.

IN THE DRAWINGS

FIG. 1 illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 5% of cross-linked amylose;

FIG. 2 illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 15% of cross-linked amylose;

FIG. 3 illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 20% of cross-linked amylose;

FIG. 4 illustrates hardness versus compression strength for tablets containing 25% of cross-linked amylose;

FIG. 5 illustrates the hardness versus the cross-linking degree when tablets are compressed at 8 tons/cm²;

FIG. 6 illustrates the hardness versus the compression strength for tablets containing 20% by weight of Avicel or CLA-15 as the binder; and

5,616,343

3

FIG. 7 illustrates the hardness versus the compression strength for tablets containing 25% by weight of Avicel or CLA-15 as the binder.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

The cross-linking of amylose is well known in the literature. For example, it can be carried out by reacting amylose with epichlorohydrin in an alkaline medium. Several cross-linking agents are available to cross-link amylose, such as 2,3-dibromopropanol, epichlorohydrin, epichlorohydrin being more preferred. Most preferred cross-linked amylose include those obtained by cross-linking 6 to 30 g of epichlorohydrin per 100 g of amylose, corresponding to a cross-linking degree of 6 to 30.

Surprisingly, it has been discovered that the above cross-linked amylose can be dry mixed in an amount not exceeding 35% by weight with active ingredients and optionally conventional tablet excipients, such as fillers, lubricants, and the like, to prepare formulations which are directly compressible into tablets in conventional tablet punchers.

To illustrate the present invention, tablets containing cross-linked amylose of various cross-linking degrees, α -monohydrate lactose 100 mesh and magnesium stearate were prepared. The crushing strength, the friability and the disintegration times of the tablets were investigated. The results showed excellent binding and disintegrating properties for cross-linked amylose having a cross-linking degree from 6 to 30. The influence of the compressional force, the cross-linking degree and the concentration of cross-linked amylose were also carefully examined.

CROSS-LINKED AMYLOSE

Amylose is a natural substance obtained from starch, a binary compound constituted by amylose non-ramified polyglucose chain wherein the repetitive glucose units are linked by α -1,4-glucosidic bonds, and by the amylopectin branched polyglucose polymer, which contains many branching points based on α -1,6-glucosidic bonds.

The cross-linking of amylose is well-known in the literature. For example, the desired cross-linking can be carried out in the manner described by Mateescu et al. in *Analytical Letters*, 1985, 18, 79-91, by reacting amylose with epichlorohydrin in an alkaline medium.

Essentially, the amylose is swollen in an alkaline medium such as sodium hydroxide at 55° C. After complete homogenization, an appropriate amount of cross-linking agent is added and homogenization continues for 45 min. The duration of heating can be varied as well as the amount of cross-linking agent used in the reaction. The cross-linked amylose gel is then neutralized with acetic acid, washed with water/acetone and dried with pure acetone. Finally, the polymer powder is exposed to air for 3 hours and stored in hermetic glass bottles.

The binding properties of these cross-linked amylose are comparable or even superior in some instances, to microcrystalline cellulose (Avicell PH-102™) which is widely used in the field. Certain cross-linked amylose advantageously present also excellent disintegration properties, thus preventing the need of an additional excipient having these properties in the tablet.

It should be noted that the unexpected and highly effective binding properties of cross-linked amylose have not been observed with cross-linked starch or cross-linked amylopec-

4

tin. This phenomenon is essentially due to the fact that amylose is constituted of linear non-ramified chains of polyglucose susceptible to be associated by hydrogen bonds. On the other hand, the presence of branched chains in amylopectin does not allow molecular rearrangements, responsible for the binding properties. Since starch contains over 75% by weight of amylopectin, it is normal that it is not as effective as amylose. Thus, the use of cross-linked amylose constitutes definitively an improvement when compared to starch.

PREPARATION OF TABLETS

The binding properties of cross-linked amylose and disintegrating properties of tablets containing same were studied. The tablets also contained α -monohydrate lactose 100 mesh as the filler and magnesium stearate as the lubricant. These latter two products are used on a current basis in the pharmaceutical industry. Furthermore, it is well-known that α -monohydrate lactose presents poor binding and disintegrating properties (Bolhuis, *Pharm. Weekblad*, 1973, 108, 469-481). Magnesium stearate is also recognized to decrease crushing-strength of lactose tablets and to increase disintegration times by hindering the water penetration into the tablet (Lerk et al., *Pharm. Acta Helv.*, 1977, 52(3), 33-39). The poor binding and disintegrating properties of the lubricant and filler used further illustrate the unexpected binding and disintegrating properties of cross-linked amylose having a cross-linking degree of 6 to 30.

Typically, α -monohydrate lactose 100 mesh and cross-linked amylose were mixed in a Turbula shaking mixer for 3 minutes. Magnesium stearate was subsequently incorporated, and the mixture further agitated for an additional 2 minutes.

Tablets weighing about 400 mg each were obtained by direct compression in a hydraulic press at 2, 4, 6 and 8 tons/cm². The tablets were of 1.26 cm diameter and thickness of about 2.0 to about 2.2 mm.

DETERMINATION OF THE TABLET CRUSHING-STRENGTH

The crushing-strength (Lerk, 1977) has been determined by using a tablet hardness tester (Strong Kobb Amer, model B124). The value is expressed in kg and is the mean of five measurements.

DETERMINATION OF THE TABLET FRIABILITY

The index of friability is determined by using a friabilitor (Pharma Test, Type PTFR II, Hainburg, Germany). 13 tablets are shaken in the apparatus for 4 min (25 rpm). The friability index is calculated according to the following equation:

$$f = (1 - M_b/M_a) \times 100$$

wherein

M_a = weight of the tablet before shaking;

M_b = weight of the tablet after the shaking.

DETERMINATION OF THE TABLET DISINTEGRATION TIME

Disintegration times were determined according to method <701> for uncoated tablets of USP XX using 1 liter of water at 37° C. as the medium. The disintegration time reported is the mean of three measurements.

5,616,343

5

The following examples are provided to illustrate the invention rather than limit its scope. Other variations within the scope of the present invention will be easily appreciated by the skilled workman.

EXAMPLE 1

Cross-linked amylose synthesis (CLA-6): 1 kg of corn amylose (Sigma Chemicals, St. Louis) and 6 L of sodium hydroxide 1N (55° C.) are mixed in a Hobart A200-T planetary mixer. After 15 minutes of homogenization, a volume of 50.8 ml (60 g, $d=1.18$ g/ml) of epichlorohydrin is added slowly and homogenization continues for another 45 min. The CLA gel is then neutralized with acetic acid and washed three times through a Büchner funnel with a solution of water:acetone 60:40. The last step consists of washing and drying the resulting solid gel with pure acetone directly on a Büchner filter. Finally, the polymer is exposed to air for 3 hours and stored in hermetic glass bottles. The granulometric fraction between 50 and 250 microns was selected in all the experiments.

This polymer will be referred to as CLA-6.

Other CLA polymers are obtained under strictly identical conditions but changing the amount of epichlorohydrin to 110, 150 and 300 g to obtain CLA-11, CLA-15 and CLA-30. In the figures, CLA-0 indicates that native amylose was treated in the same manner as above, except that no epichlorohydrin was added.

EXAMPLE 2

α -monohydrate lactose 100 mesh and cross-linked amylose prepared in Example 1 were mixed in a Turbula shaking mixer for 3 minutes; magnesium stearate was added, and the mixture further agitated for 2 minutes.

The proportions of the various ingredients in the tablets are reported in Table 1. Avicel PH-102™ was used as a comparison since it is one of the better binding/disintegrating agent presently available on the market.

TABLE 1

Concentration of each ingredient in the tablets			
Mixture (number)	Lactose (%)	Mg stearate (%)	CLA content (%)
1	99.8	0.2	0.0
2	94.8	0.2	5.0
3	84.8	0.2	15.0
4	79.8	0.2	20.0
5	74.8	0.2	25.0

Tablets weighing about 400 mg each were obtained by direct compression in a hydraulic press at 2, 4, 6 and 8 tons/cm². The tablets were of 1.26 cm diameter and thickness of about 2.0 to about 2.2 mm.

EXAMPLE 3

The crushing-strength results are presented in FIGS. 1, 2, 3 and 4. The crushing-strength (kg) is plotted against the compressional force (t/cm^2) for the different CLA-n prepared in example 1. The plot of the crushing-strength versus the compression force of lactose tablets deprived of binder are also reported in FIGS. 1, 2, 3 and 4 to assess clearly the effect of the compression force and the presence of the binding agent on the crushing-strength.

6

It can be seen in FIG. 1 that tablets made of lactose and magnesium stearate without any binder are not very hard and break easily (all the crushing-strength values are below 8.4 kg, which is the best value obtained). Furthermore, an increase in compression force to 8 tons/cm² causes a dramatic decrease in hardness (2.7 kg). This is caused by the lactose particles which tend to break down in smaller particles when high compressional forces are applied.

The effect of cross-linked amylose is clearly demonstrated in FIGS. 1 to 4 since their presence in the tablets leads generally to an increase in hardness. The beneficial effect is particularly evident when the concentration of cross-linked amylose is equal or higher than 15%. Thus, the cross-linked amylose concentration is an important parameter for obtaining satisfactory tablet hardness.

Another important point is the effect of the cross-linking degree on the tablet hardness for identical concentrations of cross-linked amylose (FIGS. 1 to 4). It can be seen that CLA-0 has almost no effect on the tablet hardness, except at a compression force of 8 tons/cm² when the polymer concentration is equal or higher than 15%. It is also apparent that the best results are obtained with a cross-linking degree of 15 (CLA-15). The crushing-strength has been plotted against the cross-linking degree for different concentrations of polymer, in the case of a compressional force equal to 8 tons/cm² to show more clearly the effect of cross-linking degree on the tablet hardness (FIG. 5). In any event, cross-linked amylose having a cross-linking degree ranging from about 6 to about 30 improved the hardness of the tablet when compared to those containing lactose and magnesium stearate and deprived of binder. Thus, the cross-linking degree of cross-linked amylose is a critical parameter in the obtention of an adequate tablet hardness.

Finally, tablets containing CLA-15 were compared to tablets containing Avicel PH-102™ and tablets deprived of binder (FIGS. 6 and 7). There is clearly an improvement in the binding properties when 20% or 25% of binder are used (Avicel PH-102™ or CLA-15). Furthermore CLA-15 presented much better binding properties than Avicel PH-102™, demonstrating the utility of cross-linked amylose in the preparation of tablets by direct compression.

EXAMPLE 4

Friability results are presented in Table 2. Clearly, cross-linked amylose shows excellent binding properties leading to very low values of friability. It is particularly evident that CLA-15 again demonstrated superior binding properties when compared to other CLAs and Avicel PH-102™. The influence of the cross-linked amylose concentration is also evident, a higher binder concentration leading to a lower friability of the tablet. These results are in perfect agreement with the results obtained for hardness experiments (see Example 3).

TABLE 2

	Friability of tablets			
	Compression force (tons/cm ²)			
	2	4	6	8
Binder 5%				
CLA-0	*	1.09	*	*
CLA-6	*	0.72	*	*
CLA-11	1.28	0.94	0.75	1.05
CLA-15	1.31	0.65	0.6	0.7
CLA-30	1.44	0.85	0.81	*
Avicel PH 102	1.33	0.64	0.67	*

5,616,343

7

8

TABLE 2-continued

	Friability of tablets			
	Compression force (tons/cm ²)			
	2	4	6	8
Binder 15%				
CLA-0	*	1.35	1.18	1.19
CLA-6	0.71	0.46	0.33	0.40
CLA-11	0.80	0.48	0.37	0.37
CLA-15	0.68	0.29	0.28	0.27
CLA-30	1.03	0.49	0.55	0.30
Avicel PH 102	1.78	0.42	0.33	0.33
Binder 20%				
CLA-0	*	1.27	1.27	1.19
CLA-6	0.39	0.36	0.34	0.30
CLA-11	0.63	0.43	0.34	0.34
CLA-15	0.50	0.27	0.18	0.20
CLA-30	0.82	0.41	0.40	0.34
Avicel PH 102	0.69	0.34	0.31	0.29
Binder 25%				
CLA-0	*	1.44	1.25	1.29
CLA-6	0.54	0.40	0.31	0.22
CLA-11	0.53	0.28	0.25	0.23
CLA-15	0.30	0.16	0.15	0.12
CLA-30	0.62	0.35	0.30	0.29
Avicel PH 102	0.57	0.31	0.23	0.22

*Tablets broke during experiment

EXAMPLE 5

Disintegration results proved to be excellent as well for cross-linked amylose CLA-15 and CLA-30 as for Avicel PH-102™ when they are used at a concentration of 20% in the tablet. All the disintegration times were between 30 and 90 seconds for compressional forces ranging from 2 to 8 tons/cm². Mixtures of various percentages of cross-linked amylose of different cross-linking degrees were studied in regard of the disintegration times and presented similar results, that is, the disintegration times varied from 30 to 90 seconds. The cross-linked amylose used for the purpose of the present invention possesses binding properties combined with disintegrating properties as long as it is employed in accordance with the restrictions specified above.

EXAMPLE 6

CLA-8 and Cross-Linked Amylopectine-8 were synthesized in the same manner as in Example 1. Tablets containing 20% of CLA-8 and 20% of cross-linked amylopectine-8 were prepared at a compressional force of 8 tons/cm², in conditions identical to those indicated in Example 2. The crushing-strength values are reported in Table 3.

TABLE 3

Crushing-strength values of CLA-8, Cross-Linked Amylopectine-8 and lactose 100 mesh.		
CLA-8 (20%)	Cross-Linked Amylopectine-8	Lactose 100 mesh
14.5	7.5	2.0
13.5	8.0	3.0
15.0	8.5	3.0
13.0	8.5	2.0
13.5	8.5	3.5
mean = 13.9	mean = 8.2	mean = 2.7

Table 3 clearly illustrates that CLA binding properties are largely superior to those of cross-linked amylopectine. The beneficial effect of CLA is better even with a cross-linking degree as low as 8. Starch being largely composed of amylopectine, it becomes obvious that the use of CLA constitutes an improvement when compared to starch and that the role of amylose is of major importance, probably due to its regular non branched structure, susceptible of being stabilized by hydrogen bonds.

It is evident that the skilled workman will be able to select properly the cross-linking degree and the concentration of cross-linked amylose to formulate adequately tablets to be prepared by direct compression, these tablet being hard, non friable and readily disintegrative when placed in aqueous medium.

While the invention has been described in connection with specific embodiments thereof, it will be understood that it is capable of further modifications and this application is intended to cover any variations, uses or adaptations of the invention following, in general, the principles of the invention and including such departures from the present disclosure as come within known or customary practice within the art to which the invention pertains, and as may be applied to the essential features hereinbefore set forth, and as follows in the scope of the appended claims.

What is claimed is:

1. A tablet obtained by direct compression of a mixture consisting essentially of an active ingredient and cross-linked amylose as a binder/disintegrant, wherein the cross-linking has been carried out with from about 6 to about 30 grams of cross-linking agent per 100 grams of amylose, and wherein the cross-linked amylose is present in the tablet in an amount not exceeding 35% by weight.

2. A tablet according to claim 1, wherein the cross-linking agent is epichlorohydrin.

3. A tablet according to claim 1, wherein the active ingredient is a drug.

4. A tablet according to claim 2, which disintegrates within 90 seconds in one liter of water at 37° C.

5. A tablet according to claim 1, which is in the form of a chewable tablet.

6. A tablet according to claim 1, further comprising at least one additional excipient.

7. A tablet according to claim 6, wherein said additional excipient is selected from the group consisting of a filler and a lubricant.

8. A tablet according to claim 1, wherein the cross-linked amylose is present in the tablet in an amount ranging from 5% to 25% by weight.

9. A tablet according to claim 8, wherein:

the cross-linking agent is epichlorohydrin;

the active ingredient is a drug; and

said mixture further comprises a pharmaceutically acceptable lubricant.

10. A tablet according to claim 9, wherein said mixture further comprises a pharmaceutically acceptable filler.

11. A tablet according to claim 8, wherein the cross-linked amylose is present in the tablet in an amount ranging from 15% to 25% by weight.

12. A tablet according to claim 9, wherein the cross-linked amylose is present in the tablet in an amount ranging from 15% to 25% by weight.

13. A tablet according to claim 10, wherein the cross-linked amylose is present in the tablet in an amount ranging from 15% to 25% by weight.

14. A tablet according to claim 8, wherein the cross-linked amylose has been cross-linked with about 15% grams of cross-linking agent per 100 grams of amylose.

5,616,343

9

15. A tablet according to claim 14, wherein:
the cross-linking agent is epichlorohydrin;
the active ingredient is a drug; and
said mixture further comprises a pharmaceutically accept-
able lubricant.

16. A tablet according to claim 15, wherein said mixture
further comprises a pharmaceutically acceptable filler.

17. A tablet according to claim 11, wherein the cross-
linked amylose has been cross-linked with about 15 grams
of cross-linking agent per 100 grams of amylose.

18. A tablet according to claim 17, wherein:
the cross-linking agent is epichlorohydrin;
the active ingredient is a drug; and

10

said mixture further comprises a pharmaceutically accept-
able lubricant.

19. A tablet according to claim 18, wherein said mixture
further comprises a pharmaceutically acceptable filler.

20. A method of binding a tablet and enhancing disinte-
gration of said tablet comprising the step of compressing a
mixture consisting essentially of an active ingredient and
cross-linked amylose as a binder/disintegrant, wherein the
cross-linking has been carried out with from about 6 to about
30 grams of cross-linking agent per 100 grams of amylose,
and wherein the cross-linked amylose is present in the tablet
in an amount not exceeding 35% by weight.

* * * * *

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

6.2. Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in compressed tablets

Dumoulin Y., Clément P., Mateescu M. A. et Cartilier L. H.

S.T.P. Pharma Sciences, 5, (1994), p. 329-335.

Accepté et publié

Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in compressed tablets

Y. Dumoulin, P. Clément, M.A. Mateescu and L. Cartilier

Université de Montréal
Université du Québec, Montréal

The present work describes cross-linked amylose (CLA), a new binder/disintegrant, for the manufacture of compressed tablets. Cross-linked amylose was formed by amylose treatment with epichlorohydrin. Different degrees of cross-linking (CLA n) were obtained by varying the epichlorohydrin/amylose ratio. CLA 0, 6, 11, 15 and 30 were synthesized and sieved to obtain two fractions: 50 to 250 μm and < 50 μm . Lactose 100 mesh was mixed with 5, 15, 20 and 25% of cross-linked amylose in a Turbula mixer. Magnesium stearate was added and mixed manually. Tablets weighing 400 mg each were produced by compression in a hydraulic press, using a compressional force of 2, 4, 6 and 8 tons. The effects of cross-linked amylose concentration and its cross-linking degree on the mechanical properties of the tablets, as well as on its disintegration time, were studied. All the experiments were repeated with Avicel PH 102[®]. Hardness increased with cross-linking degree and a maximum was obtained with CLA 15. A higher amount of cross-linked amylose in addition to greater compressional force resulted in improved hardness values. The friability index was investigated for CLA 15 and Avicel PH 102[®]. The results proved that the mechanical properties of CLA 15 were better than those of Avicel PH 102[®]. Disintegration studies gave satisfactory results under a certain range of concentrations and compressional forces when compared with Avicel PH 102[®]. Finally, there exists a direct relationship between the cross-linking degree and the rate of water uptake.

Ce travail décrit un nouvel agent liant/délimitant, l'amylose réticulé (AR), pour la fabrication de comprimés. L'amylose réticulé est formé par réaction de l'épichlorohydrine avec l'amylose. Différents degrés de réticulation (AR n) sont obtenus en variant le rapport épichlorohydrine/amylose. AR 0, 6, 11, 15 et 30 ont été synthétisés et tamisés de manière à obtenir deux fractions granulométriques: de 50 à 250 μm et < 50 μm . Le lactose 100 mesh a été mélangé avec 5, 15, 20 et 25% d'amylose réticulé dans un mélangeur Turbula. Le stéarate de magnésium a été ajouté ensuite et mélangé manuellement. Des comprimés de 400 mg ont été réalisés au moyen d'une presse hydraulique à des forces de compression de 2, 4, 6 et 8 tonnes. Les effets de la concentration et du degré de réticulation de l'amylose réticulé sur les propriétés mécaniques et le temps de désagrégation des comprimés ont été étudiés. Toutes les expériences ont été répétées avec l'Avicel PH 102[®]. La dureté augmente avec le degré de réticulation jusqu'à un maximum pour le degré AR 15. Une plus grande proportion d'amylose réticulé, ainsi qu'une augmentation de la force de compression, ont pour conséquence d'augmenter la dureté des comprimés. L'indice de friabilité a été déterminé pour l'AR 15 et l'Avicel PH 102[®]. Les résultats montrent une supériorité de l'AR 15 en ce qui concerne les propriétés mécaniques des comprimés. Les résultats des tests de désagrégation se sont révélés satisfaisants lorsque l'amylose réticulé est comparé à l'Avicel PH 102[®]. Finalement, il existe une relation directe entre le degré de réticulation et la vitesse d'absorption d'eau.

Keywords: Cross-linked amylose—Binding—Disintegration—Compressional force—Crushing strength—Friability—Water uptake.

Mots clefs: Amylose réticulé—Agent liant—Désagrégation—Force de compression—Dureté—Friabilité—Absorption d'eau.

Tablets obtained by direct compression must exhibit good mechanical properties, i.e. adequate hardness and friability, which are somewhat related because an increase in hardness generally leads to a decrease in friability. The term hardness describes the resistance that tablets offer towards the stresses and strains of transportation and storage. Usually, crushing strength is defined as « the compressional force which, when applied diametrically to a tablet, just fractures it » [1].

A few materials, such as sodium chloride and saccharose, are directly compressed into a readily coherent and compact

mass in a tableting machine [2]. However, most active ingredients require a binding agent to be added for tableting [3]. A binding agent causes particles to bind together, increasing the strength of compressed tablets. Typical dry binders are microcrystalline cellulose (Avicel PH 101[®] and PH 102[®]), polyvinylpyrrolidone (Kollidon[®], Plasdone[®]), corn starch, wheat starch, potato starch, modified starches, and gums [4]. Tablets must disintegrate rapidly to provide adequate drug levels quickly in blood [5]. Tablets in contact with fluids may not immediately fall apart into distinct particles. To this end, disintegrants are added [6]. Typical disintegrants are corn starch, gelatinized starches (Sta-Rx[®]), and modified starches, e.g.

sodium starch glycolate (Primojel®) [7]. Some materials, microcrystalline cellulose (Avicel PH 101® and PH 102®) for example, present characteristics of both binders and disintegrants [8].

Despite the existence of many binders and disintegrants, pharmaceutical researchers continue their efforts to develop improved materials capable of being employed as binders/disintegrants in the preparation of tablets by direct compression [9]. It was observed in previous works that controlled-release tablets made of cross-linked amylose of a low cross-linking degree were particularly resistant to mechanical stress [10]. The present work relates to cross-linked amylose (CLA) as a binder/disintegrant which permits tablets to be made by direct compression.

I. EXPERIMENTAL

1. Cross-linked amylose synthesis

Amylose is a natural substance obtained from starch. It is a binary compound composed of an amylose non-ramified polyglucose chain with repetitive glucose units linked by α -1,4-glycosidic bonds. Its constitution also includes the amylopectin branched polyglucose polymer with a significant frequency of branching points based on α -1,6-glycosidic bonds [11]. Amylose can be cross-linked by reacting it with epichlorohydrin in an alkaline medium [12, 13].

One kilogram of corn amylose (Sigma Chemicals, St. Louis, United States) and 6 l of sodium hydroxide 1 N (55°C) were mixed in a Hobart A200-T planetary mixer. After 15 min of homogenization, a volume of 50.8 ml of epichlorohydrin was added slowly and homogenization continued for another 45 min. The cross-linked amylose gel was then neutralized with acetic acid and washed three times through a Büchner funnel with a solution of water/acetone (60/40). The last step consisted of washing and drying the resulting solid gel with pure acetone, directly on a Büchner filter. Finally, the polymer was exposed to air for 3 h and stored in hermetic glass bottles. Granulometric fractions between 50 and 250 μ m were selected for all experiments. When another granulometric fraction is used, it is mentioned in the text.

Since the cross-linking degree of this polymer is 6, it is referred to as CLA 6. Other cross-linked amylose polymers were obtained under strictly identical conditions with *n* indicating the amount (g) of epichlorohydrin used for cross-linking 100 g of amylose (i.e. CLA *n* with *n* = 0, 6, 11, 15 or 30).

2. Tablet preparation

The cross-linked amylose polymers mentioned above possess properties which allow them to be dry-mixed with active ingredients and conventional tableting aids, such as fillers, lubricants, and the like, to prepare formulations which are directly compressible into tablets in conventional tableting equipment.

To study the binding and disintegrating properties of cross-linked amylose included in a typical formulation, α -monohydrate lactose 100 M (DMV, Veghel, The Netherlands) was chosen as the filler and magnesium stearate as the lubricant. These products are currently used in the pharmaceutical industry. Furthermore, it is well known that this lactose has poor binding and disintegrating properties [14]. Magnesium stearate is recognized for its ability to decrease the crushing strength of lactose tablets and to increase disintegration time by hindering water penetration [15]. These poor binding and disintegrating conditions helped us to demonstrate the validity of the new binding and disintegrating materials.

α -monohydrate lactose 100 M and the binding/disintegrating agent were mixed in a Turbula shaking mixer at 35 r/min for 3 min. Magnesium stearate was added and mixed manually for 2 min. The proportions of the various ingredients are reported in table I.

Table I - Proportions of ingredients.

Mixture (number)	Lactose (%)	Magnesium stearate (%)	CLA (%)
1	99.8	0.2	0.0
2	94.8	0.2	5.0
3	84.8	0.2	15.0
4	79.8	0.2	20.0
5	74.8	0.2	25.0

Various cross-linked amylose polymers (CLA 0, 6, 11, 15, 30) were used in these experiments. Avicel PH 102® (microcrystalline cellulose, FMC Corporation, Wallingstown, Ireland) was employed for comparison, since it is one of the best binding/disintegrating agents on the market.

Tablets weighing about 400 mg each were obtained by direct compression in a hydraulic press at 2, 4, 6 and 8 tons. They were 1.26 cm in diameter with a thickness of between 2.0 and 2.2 mm.

3. Determination of tablet crushing strength

Crushing strength [1, 15] was measured with a tablet hardness tester (model B124, Strong Kobb Arner). Each value is expressed in kilogram and is the mean of five measurements.

4. Determination of tablet friability

The friability index was assessed with a friabilitor (type PTFR II, Pharma Test, Hainburg, Germany). Thirteen tablets were shaken in this apparatus for 4 min (25 r/min). The index was calculated with the following equation :

$$I = (1 - Ma/Mb) \times 100$$

where *Ma* is the weight of the tablets after shaking and *Mb* the weight of the tablets before shaking.

5. Determination of tablet disintegration time

Disintegration times were measured according to method <701>, a disintegration test for uncoated tablets of USP XXI [16] using 1 l of water at 37°C as a medium. The disintegration times reported are the means of three measurements.

6. Kinetics of water absorption

A water uptake apparatus has been designed to study the water absorption properties of cross-linked amylose tablets (figure 1). This apparatus is based on a model originally developed by Nogami [17, 18]. A mass calibration of the apparatus has been realized with water at 37°C. Tablets made of 300 mg of CLA 3, 6, 15 and 30 with a surface of 1.33 cm² were placed individually on the Whatman filter. The water penetration into the different tablets was measured as a function of time. The water uptake was expressed in $\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-2}$ and is the mean of three measurements.

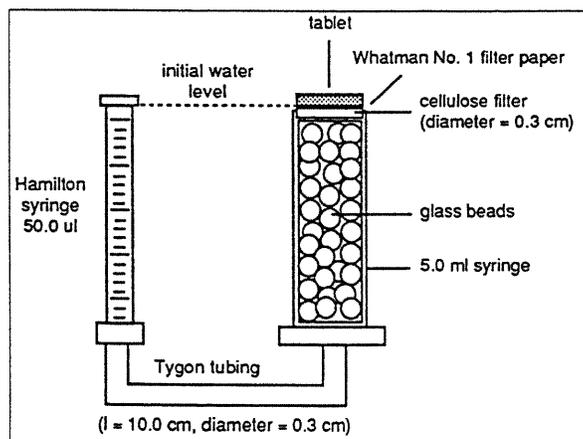


Figure 1 - Water uptake apparatus.

II. RESULTS AND DISCUSSION

1. Crushing strength

Figures 2 to 5 present our crushing strength results (in kg) plotted against compressional force (tons) for the different CLA n described in section I.1. (« Cross-linked amylose synthesis »), namely CLA 0, 6, 11, 15 and 30. Crushing strength was also charted against the compressional force of lactose tablets in the absence of any binder (also reported in figures 2 to 5) to assess clearly the effect of compressional force and presence of the binding agent on crushing strength. Figures 2 to 5 enumerate the data obtained respectively with 5, 15, 20 and 25% of cross-linked amylose. The complete data (average mean and standard deviation) are presented in table II.

It can be seen in figure 2 that tablets made of lactose and magnesium stearate without any binder were not very hard and broke easily (all crushing strength scores were below 8.4 kg, the best value obtained). An increase in compressional force to

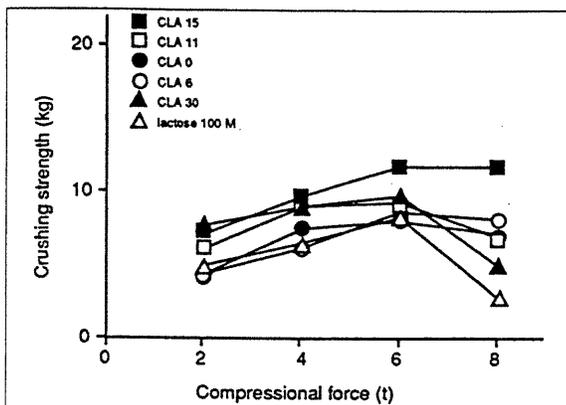


Figure 2 - Crushing strength for tablets containing 5% of cross-linked amylose powder of various cross-linking degrees (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.

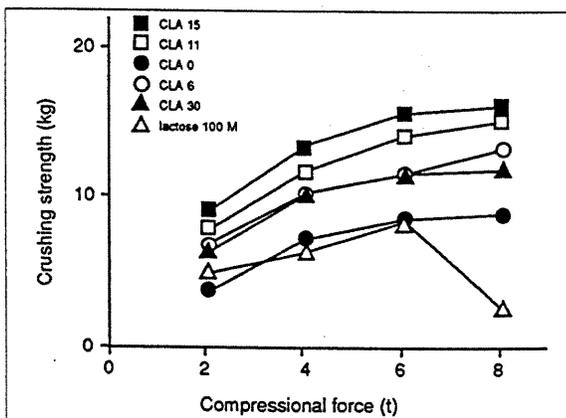


Figure 3 - Crushing strength for tablets containing 15% of cross-linked amylose powder of various cross-linking degrees (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.

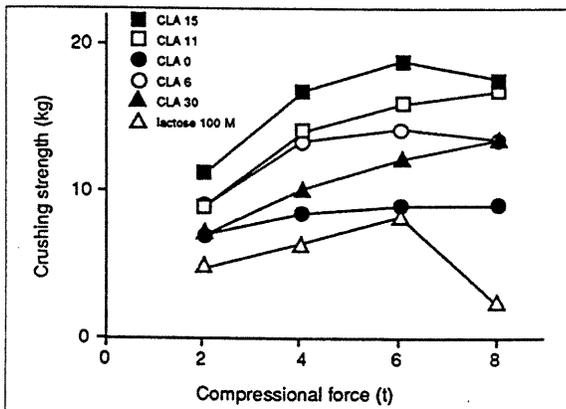


Figure 4 - Crushing strength for tablets containing 20% of cross-linked amylose powder of various cross-linking degrees (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.

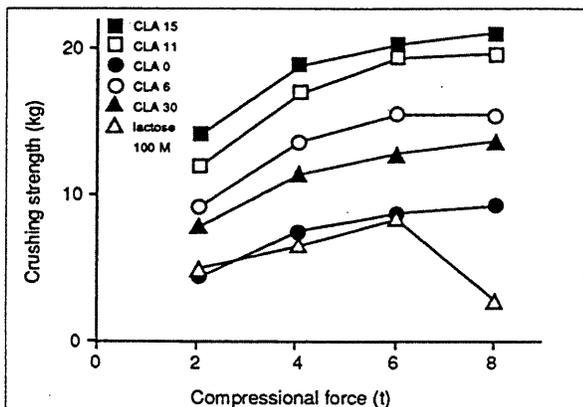


Figure 5 - Crushing strength for tablets containing 25% of cross-linked amylose powder of various cross-linking degrees (CLA 0, 6, 11, 15, 30) as a function of compressional force. Crushing strength values of tablets with α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate are plotted for comparison.

Table II - The effect of the compressional force and the nature and concentration of the binder on the crushing strength of tablets.

Binder	Crushing strength (SD) (kg)			
	Compressional force (t)			
	2	4	6	8
5% binder				
CLA 0	4.3 (0.45)	7.4 (0.42)	8.1 (0.96)	6.9 (3.61)
CLA 6	4.4 (0.89)	6.1 (0.22)	8.7 (1.44)	8.0 (1.27)
CLA 11	6.1 (0.82)	8.9 (0.96)	9.1 (0.96)	6.7 (2.08)
CLA 15	7.1 (1.24)	9.6 (0.55)	11.7 (0.84)	11.6 (1.64)
CLA 15 < 50 μ m	8.1 (0.82)	12.0 (0.71)	14.5 (1.44)	15.8 (0.76)
CLA 30	7.6 (1.82)	8.8 (0.84)	9.6 (1.67)	4.8 (1.30)
Avicel PH 102*	6.7 (0.57)	9.8 (1.04)	10.2 (2.56)	10.1 (2.51)
15% binder				
CLA 0	5.4 (3.77)	7.2 (1.44)	8.5 (0.50)	9.0 (1.41)
CLA 6	6.8 (0.27)	10.2 (1.04)	11.5 (1.41)	13.1 (0.89)
CLA 11	7.8 (0.27)	11.6 (0.42)	14.1 (0.42)	15.2 (0.76)
CLA 15	9.1 (0.82)	13.3 (0.57)	15.7 (0.67)	16.1 (0.89)
CLA 15 < 50 μ m	10.5 (0.35)	16.4 (0.22)	18.3 (1.35)	20.3 (1.25)
CLA 30	6.5 (0.00)	10.3 (0.27)	11.5 (1.73)	12.0 (0.35)
Avicel PH 102*	8.2 (0.27)	13.0 (0.79)	15.3 (0.97)	16.6 (1.85)
20% binder				
CLA 0	6.7 (0.27)	8.6 (0.42)	9.2 (0.57)	9.3 (0.67)
CLA 6	9.1 (0.42)	13.7 (0.45)	14.4 (0.96)	13.7 (1.04)
CLA 11	9.0 (0.50)	14.2 (0.27)	16.1 (0.89)	17.0 (0.79)
CLA 15	11.3 (0.45)	17.0 (0.61)	19.0 (2.32)	17.8 (2.32)
CLA 15 < 50 μ m	13.5 (0.87)	18.5 (1.12)	21.0 (1.06)	23.2 (0.76)
CLA 30	7.3 (0.27)	10.3 (0.27)	12.4 (0.42)	13.8 (0.27)
Avicel PH 102*	9.4 (0.65)	14.1 (1.24)	16.6 (0.89)	18.4 (0.65)
25% binder				
CLA 0	4.5 (2.12)	7.5 (1.17)	8.5 (0.42)	9.2 (1.04)
CLA 6	9.2 (1.30)	13.7 (1.25)	15.6 (0.82)	15.4 (1.19)
CLA 11	12.0 (0.61)	17.0 (0.87)	19.3 (0.84)	19.6 (1.39)
CLA 15	14.1 (0.89)	18.9 (0.74)	20.3 (0.45)	21.0 (1.06)
CLA 15 < 50 μ m	16.1 (0.22)	22.5 (1.00)	24.9 (0.82)	26.2 (0.45)
CLA 30	7.8 (0.67)	11.4 (0.65)	12.7 (0.27)	13.7 (0.76)
Avicel PH 102*	9.9 (1.19)	15.4 (0.82)	16.5 (1.54)	18.4 (0.96)
Lactose 100 M	4.9 (0.65)	6.4 (0.65)	8.4 (0.89)	2.7 (0.67)

8 tons caused a dramatic decrease in hardness (2.7 kg). This could have been due to the fact that lactose particles tend to break down into smaller particles when high compressional forces are applied.

The effect of cross-linked amylose is clearly demonstrated in figure 2 to 5. Its presence generally led to an increase in hardness. This beneficial effect was strikingly evident when binder concentration was equal to or higher than 15%. Thus, cross-linked amylose concentration was an important parameter of adequate tablet hardness.

Another important point was the effect of cross-linking degree on tablet hardness (figures 2 to 5). Crushing strength was plotted against cross-linking degree with different polymer concentrations, in the case of a compressional force equal to 8 tons, to show more clearly the effect of cross-linking degree on tablet hardness (figure 6). It can be seen that CLA 0 had almost no effect on tablet hardness, except at a compressional force of 8 tons, when polymer concentration was equal to or higher than 15%. On the other hand, the best mechanical properties were obtained with a cross-linking degree equal to 15, regardless of the compressional force or cross-linked amylose concentration. However, polymers with a cross-linking degree ranging from about 6 to about 30 caused a pronounced improvement in hardness when compared with tablets containing only lactose and magnesium stearate. Cross-linking degree was thus an important parameter of adequate tablet hardness.

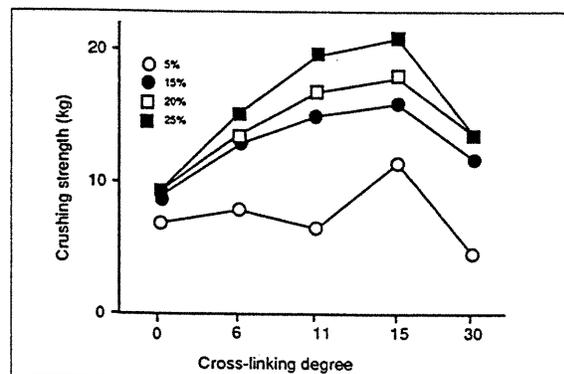


Figure 6 - Crushing strength for tablets with various percentages of cross-linked amylose compressed at 8 tons as a function of cross-linking degree.

Tablets containing CLA 15 (which demonstrated the best binding properties among the cross-linking degrees tested) were also compared with tablets containing Avicel PH 102* and those without any binder. The results obtained with 20 and 25% of binder are presented in figures 7 and 8. Tablets made with CLA 15 had a higher crushing strength than those made with Avicel PH 102* at every concentration tested (from 5 to 25% of binder), showing the value of cross-linked amylose in the production of tablets by direct compression. The analysis of variance shows a significant difference with $n = 5$, $p < 0.001$. In addition, by looking at figures 7 and 8, it can be seen that the crushing strength values obtained with 20 and 25% of Avicel

PH 102[®] are almost identical. No clear improvement in crushing strength resulted from the addition of 5% of Avicel PH 102[®] to the formulation. However, if we look at the data generated by CLA 15, an improvement in the binding properties of tablets was obvious when the concentration was increased. For example, at a compressional force of 2 tons (the lowest force tested), crushing strength went from 11.3 to 14.1 kg when the concentration was increased from 20 to 25%. The superiority of CLA 15 over Avicel PH 102[®] was best exemplified by results obtained with the lowest compressional forces applied. The better binding properties observed at low compressional forces

are a significant advantage with this new binder since tablets are usually made at compressional forces below 4 tons.

Finally, the influence of cross-linked amylose granulometry on binding properties was studied. Crushing strength was plotted against compressional force for tablets containing 20 or 25% of CLA 15 (granulometric fraction between 50 and 250 μm), CLA 15 (granulometric fraction lower than 50 μm), or Avicel PH 102[®]. Tablets containing only lactose 100 M and magnesium stearate were tested for comparison (figures 7 and 8). It appears that a decrease in CLA 15 particle size drastically improved tablet strength (analysis of variance shows a significant difference with $n = 5$, $p < 0.001$). For example, tablets made with 20% of CLA 15 (granulation under 50 μm) at a compressional force of 6 tons gave 10% higher values (21 kg versus 19 kg) than coarser CLA 15 granulations. This effect was further pronounced when the concentration was raised to 25%, which produced a 23% improvement (24.9 kg versus 20.3 kg). This is important with respect to final product quality because a compromise between binding and flowing properties has to be made: an increase in particle size will improve flowability, but will decrease binding. In addition, yield must also be considered before choosing the final characteristics of the commercial product.

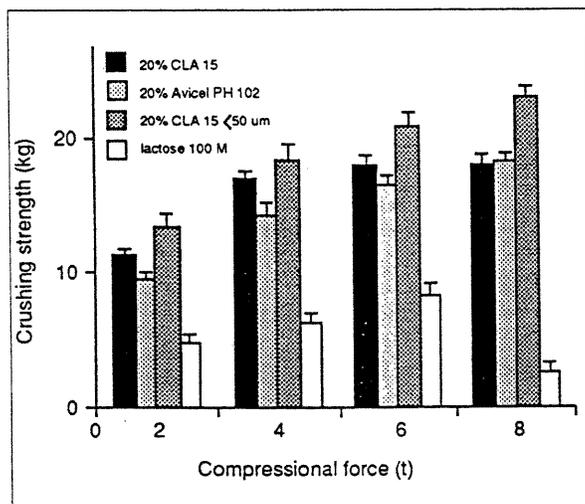


Figure 7 - Crushing strength of tablets containing 20% of CLA 15, 20% of CLA 15 (granulometric fraction below 50 μm), 20% of Avicel PH 102[®], or α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate, as a function of different compressional forces. Error bars represent standard deviation.

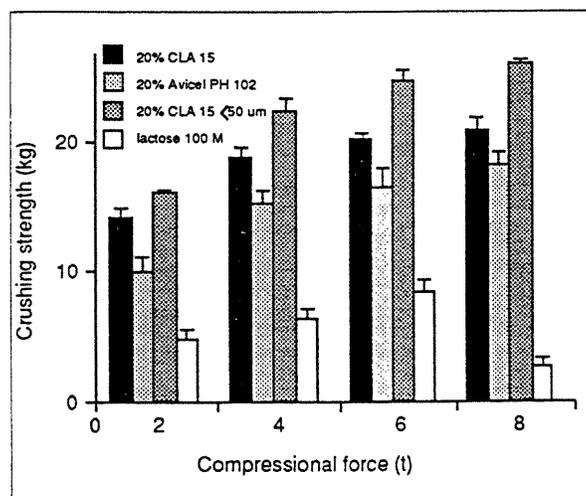


Figure 8 - Crushing strength of tablets containing 25% of CLA 15, 25% of CLA 15 (granulometric fraction below 50 μm), 25% of Avicel PH 102[®], or α -monohydrate lactose 100 M and magnesium stearate, as a function of different compressional forces. Error bars represent standard deviation.

2. Friability

Friability data are enumerated in table III and figures 9 and 10. Except for CLA 0, all cross-linked amylose polymers presented excellent binding properties, leading to very low friability values. However, no clear relationship could be found between the cross-linking degree and friability except if we

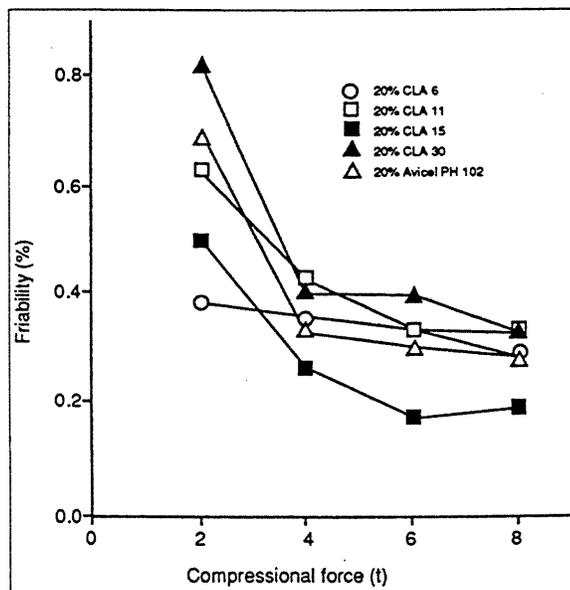


Figure 9 - Friability of tablets containing 20% of cross-linked amylose (CLA 6, 11, 15, 30), or 20% of Avicel PH 102[®] as a function of compressional force.

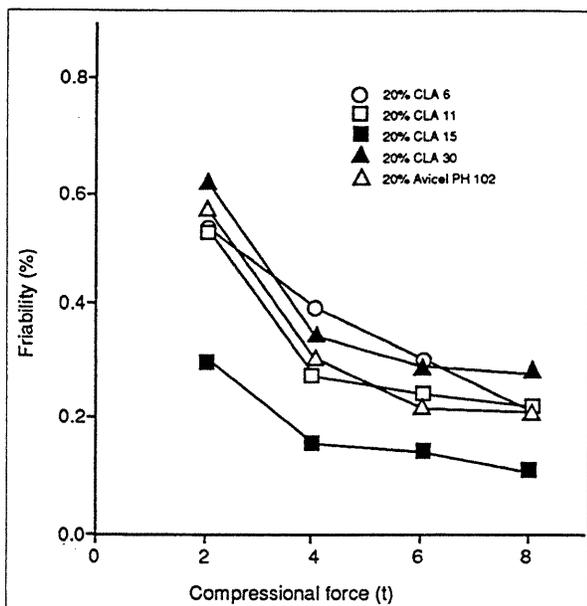


Figure 10 - Friability of tablets containing 25% of cross-linked amylose (CLA 6, 11, 15, 30), or 25% of Avicel PH 102[®] as a function of compressional force.

Table III - The effect of the compressional force and the nature and concentration of the binder on the friability of tablets.

Binder	Friability index Compressional force (t)			
	2	4	6	8
5% binder				
CLA 0	∞	1.09	∞	∞
CLA 6	∞	0.72	∞	∞
CLA 11	1.28	0.94	0.75	1.05
CLA 15	1.31	0.65	0.60	0.70
CLA 30	1.44	0.85	0.81	∞
Avicel PH 102 [®]	1.33	0.64	0.67	∞
15% binder				
CLA 0	∞	1.35	1.18	1.19
CLA 6	0.71	0.46	0.33	0.40
CLA 11	0.80	0.48	0.37	0.37
CLA 15	0.68	0.29	0.28	0.27
CLA 30	1.03	0.49	0.55	0.30
Avicel PH 102 [®]	0.78	0.42	0.33	0.33
20% binder				
CLA 0	∞	1.27	1.27	1.19
CLA 6	0.39	0.36	0.34	0.30
CLA 11	0.63	0.43	0.34	0.34
CLA 15	0.50	0.27	0.18	0.20
CLA 30	0.82	0.41	0.40	0.34
Avicel PH 102 [®]	0.69	0.34	0.31	0.29
25% binder				
CLA 0	∞	1.44	1.25	1.29
CLA 6	0.54	0.40	0.31	0.22
CLA 11	0.53	0.28	0.25	0.23
CLA 15	0.30	0.16	0.15	0.12
CLA 30	0.62	0.35	0.30	0.29
Avicel PH 102 [®]	0.57	0.31	0.23	0.22

∞ : tablets broke during the experiment.

focused on CLA 15 which again demonstrated its superior binding properties when compared with other cross-linked amyloses and Avicel PH 102[®] with a clear difference easily observable in both figures. The influence of cross-linked amylose concentration can be inferred from the figures and, as expected, higher binder concentration led to lower friability. In addition, it is obvious from figure 10 that the better results obtained with CLA 15 over Avicel PH 102[®] are especially marked at low compressional forces. These data are in perfect agreement with those obtained in the hardness experiments (figures 2 to 5).

3. Disintegration

The disintegration data are shown in table IV. They proved to be excellent for CLA 15 and Avicel PH 102[®], when they were used at a 20% concentration. A higher compressional force led to a higher disintegration time. However, a decrease in cross-linked amylose particle size led to an increase in disintegration time. A lower particle size increases the specific surface of cross-linked amylose, and thus increases the number of contacts between cross-linked amylose particles. Possibly, the internal structure of the tablet is close to a network of cross-linked amylose particles : if we increase too much the cross-linked amylose concentration, then the water absorption by cross-linked amylose particles could finally lead to a gelification process of the tablet in place of an explosion of the tablet structure [19].

Table IV - The effect of the compressional force on the disintegration time of tablets containing 20% of a binder/disintegrant.

Binder	Disintegration time (SD) (s) Compressional force (t)			
	2	4	6	8
CLA 15	12 (0.6)	27 (0.6)	35 (1.0)	39 (2.1)
CLA 15 < 50 μm	17 (0.6)	33 (3.5)	56 (1.0)	63 (4.0)
Avicel PH 102 [®]	12 (1.0)	21 (0.6)	38 (1.5)	54 (0.6)

4. Kinetics of water absorption

In order to understand why cross-linked amylose of low cross-linking degrees can be used as a slow release agent [10] and CLA 15 as a binder/disintegrant, water uptake studies were undertaken. It is worth noting that, for these experiments, tablets were totally composed of cross-linked amylose : this was necessary because of the fast disintegration of the tablets occurring with the formula containing lactose and cross-linked amylose with a high cross-linking degree.

The results are presented in figure 11. Clearly, an increase in the cross-linking degree increases the rate of water uptake and explains the specific use of cross-linked amylose as a function of its cross-linking degree : as a slow release agent for a low cross-linking degree and as a binder/disintegrant for a high cross-linking degree. The disintegration of the tablet is linked to the fast liquid penetration : it is more likely that the water penetration causes the swelling of the disintegrant [13],

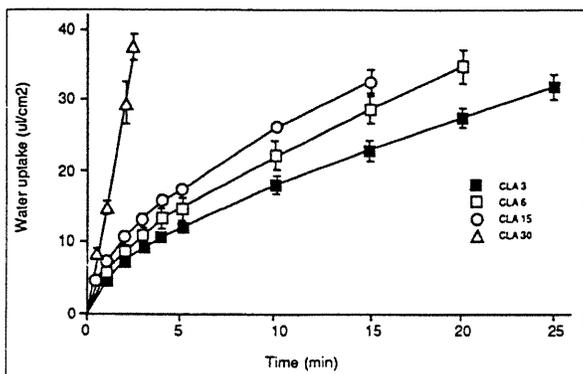


Figure 11 - The influence of the cross-linking degree on the water uptake by cross-linked amylose tablets. Error bars represent the standard deviation.

which leads to tablet destruction by the development of forces inside the tablet [6].

*
* *

Cross-linked amylose possesses excellent binding properties which depend on the cross-linking degree of the polymer and its concentration in tablets produced by direct compression. CLA 15 has the best binding properties, even better than Avicel PH 102[®]. A decrease in particle size improves binding. CLA 15 advantageously combines excellent binding and disintegration properties, thus eliminating the need to add a specific disintegrant to the tablet formulation. The high rate of water uptake of CLA 15 tablets explains why CLA 15 acts as a disintegrant.

REFERENCES

- BROOK D.B. and MARSHALL K. - Crushing strength of compressed tablets. I. Comparison of testers. - *J. Pharm. Sci.*, **57**, 481-484, 1968.
- RIDGWAY K., SHOTTON E. and GLASBY J. - The hardness and elastic modulus of some crystalline pharmaceutical materials. - *J. Pharm. Pharmacol.*, **21**, 19S-23S, 1969.
- ARMSTRONG N.A. - Criteria for assessing direct compression diluents. - *Manuf. Chem.*, **57**, 29-31, 1986.
- PECK G.E., BAILEY G.J., McCURDY V.E. and BANKER G.S. - Tablet formulation and design. - In : *Pharmaceutical Dosage Forms : Tablets*, Vol. 1, H.A. Lieberman, L. Lachman and J.B. Schwartz Eds., Marcel Dekker, New York, 1989, pp. 75-194.
- CARSTENSEN J.T. - Physical properties of solid dosage forms. VI-4. Tablet and plug disintegration. - In : *Solid Pharmaceutics : Mechanical Properties and Rate Phenomena*, Academic Press, New York, 1980, pp. 220-224.
- GUYOT-HERMANN A.M. - Tablet disintegration and disintegrating agents. - *STP Pharma Sci.*, **2**, 445-462, 1992.
- BOLHUIS G.K., VAN KAMP H.V., LERK C.F. and SESSINK F.G. - On the mechanism of action of modern disintegrants. - *Acta Pharm. Technol.*, **28**, 111-114, 1982.
- LANDIN M., VAZQUEZ M.J., SOUTO C., CONCHEIRO A., GOMEZ-AMOZA J.L. and MARTINEZ-PACHECO R. - Comparison of two varieties of microcrystalline cellulose as filler-binders. I. Prednisone tablets. - *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **18**, 355-368, 1992.

- KAWASHIMA Y., TAKEUCHI H., HINO T., NIWA T., LIN T.L., SEKIGAWA F. and OHYA M. - The effects of particle size, degree of hydroxypropyl substitution and moisture content of low-substituted hydroxypropylcellulose on the compactibility of acetaminophen and the drug release rate of the resultant tablets. - *STP Pharma Sci.*, **3**, 170-177, 1993.
- LENAERTS V., DUMOULIN Y., CARTILIER L. and MATEESCU M.A. - Cross-linked amylose tablets for controlled release of drugs. - *Proc. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **19**, 30-31, 1992.
- MATEESCU M.A. and SCHELL H.D. - A new amyloclastic method for the selective determination of alpha-amylase using cross-linked amylose as insoluble substrate. - *Carbohydr. Res.*, **124**, 319-323, 1983.
- CARTILIER L., MATEESCU M., DUMOULIN Y. and LENAERTS V. - Cross-linked amylose as a new binder/disintegrant in compressed tablets. - *US Patent Application*, 1993.
- LENAERTS V., DUMOULIN Y. and MATEESCU M.A. - Controlled release of theophylline from cross-linked amylose tablets. - *J. Control. Rel.*, **15**, 39-46, 1991.
- BOLHUIS G.K. and LERK C.F. - Comparative evaluation of excipients for direct compression. I. - *Pharm. Weekblad*, **108**, 469-481, 1973.
- LERK C.F., BOLHUIS G.K. and SMEDEMA S.S. - Interaction of lubricants and colloidal silica during mixing with excipients. - *Pharm. Acta Helv.*, **52**, 33-39, 1977.
- The United States Pharmacopoeia, USP XXI. - Method <701>, Disintegration. - 1985, pp. 1242-1243.
- CARTILIER L., TAWASHI R. and MOES A. - Caractérisation morphologique des grains d'amidon par séries de Fourier. Application à l'étude de la désagrégation de comprimés à base d'amidon natif. - *STP Pharma*, **3**, 338-394, 1987.
- NOGAMI J.H., NAGAI T., FUKUOKA E. and SONOBE T. - Disintegration of the aspirin tablets containing potato starch and microcrystalline cellulose in various concentrations. - *Chem. Pharm. Bull.*, **17**, 1450-1455, 1969.
- LEUENBERGER H., ROHERA B.D. and HAAS C. - Percolation theory, A novel approach to solid dosage form design. - *Int. J. Pharm.*, **38**, 109-115, 1987.

ACKNOWLEDGEMENTS

Y. Dumoulin holds a grant awarded by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada. P. Clément gratefully acknowledges the financial support received from Rougier Inc.

AUTHORS ADDRESSES

Y. Dumoulin, P. Clément and L. Cartilier, Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, CP 6128, Succ. A, Montréal, Québec, H3C 3J7, Canada.

M.A. Mateescu, Département de Chimie, Université du Québec à Montréal, CP 8888, Succ. A, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.

CORRESPONDENCE

Prof. Louis Cartilier.

MANUSCRIPT

Received 14 October 1993, accepted for publication 18 July 1994.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 7.0. DÉVELOPPEMENTS RÉCENTS SUR L'UTILISATION DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ

Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances

V. Lenaerts, I. Moussa, Y. Dumoulin, F. Mebsout, F. Chouinard, P. Szabo, M. A. Mateescu, L. Cartilier et R. Marchessault

J. Control. Rel. 53, (1998), p. 225-234

Accepté et publié



Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances

V. Lenaerts^{a,*}, I. Moussa^b, Y. Dumoulin^c, F. Mebsout^a, F. Chouinard^a, P. Szabo^d,
M.A. Mateescu^d, L. Cartilier^b, R. Marchessault^e

^aLabopharm Inc., 3030 Caarrefour, Suite 701, Laval, Canada H7T 2P5

^bFaculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Canada

^cRougier Inc., Montréal, Canada

^dDépartement de Chimie, Université du Québec à Montréal, Montréal, Canada

^eFaculty of Chemistry, McGill University, Montreal, Canada

Received 1 May 1997; received in revised form 22 August 1997; accepted 22 August 1997

Abstract

Cross-linked high amylose starches have been developed as excipients for the formulation of controlled-release solid dosage forms for the oral delivery of drugs. Advantages of this new class of excipients include cost-effectiveness, readily accessible industrial manufacturing technology, high active ingredient core loading and the possibility of achieving a quasi zero-order release for most drugs. In addition to the latter, other features distinguish cross-linked high amylose starches from other excipients used to prepare hydrophilic matrices. Among these are the absence of erosion, the limited swelling and the fact that increasing cross-linking degrees results in increased water uptake rate, drug release rate and equilibrium swelling. Thus the goal of the present study was to gain some insights into the mechanism of drug release control by matrices of cross-linked high amylose starch. Water transport kinetics and dimensional changes were studied in matrices placed in water at 37°C by an image analysis technique. The results show that in the first 5 min, a gel layer is formed at the surface of the tablet, after which the gel front seems to halt its progression toward the center of the tablet. Water continues to diffuse through the front and to invade the core. As a consequence, this latter swells, with a predominance for radial swelling. Equilibrium swelling is reached over 3 days, when the water concentration in the tablet becomes homogeneous and the whole tablet gelifies. Solid-state ¹³C-NMR were acquired on cross-linked high amylose starch powders, tablets and hydrated tablets with varying cross-linking degrees. They show a predominance of the V-type single helix arrangement of amylose in the dry state irrespective of the cross-linking degree. Upon hydration, the homologues with a low cross-linking degrees show a transition from the V to the B-type double helix arrangement. It is therefore hypothesized that the capacity of amylose to undergo the V to B transition is an important factor in controlling water transport and drug release rate. Finally applications to different drugs are reviewed briefly. They illustrate the versatility of this technology as generic versions of zero order OROS drug (Efidac) and Fickian release conventional matrices (Voltaren SR) were developed and successfully tested in pilot clinical studies to be bioequivalent to the references. These studies further showed that cross-linked high amylose starch matrices have the lowest inter-subject variability among the systems tested and show a total absence of food effect. © 1998 Elsevier Science B.V.

Keywords: Controlled-release; Cross-linked starch; Hydrophilic matrices; Zero-order release

*Corresponding author.

1. Introduction

Cross-linked starches have long been used as food additives [1] because of their safety and low cost. A few years ago it was discovered that they also possess unique features that suggest their use as an excipient for the manufacture of controlled release solid oral dosage forms of drugs [2]. Among these properties is the possibility to obtain quasi zero-order release profiles with a very simple and cost-effective manufacturing process and very low sensitivity of release profiles to manufacturing conditions such as i.e. tableting pressure [3]. It was also found that drug release rate increases with increasing cross-linking degree of the polymer. These properties were found to be limited to high amylose starches, gelatinized and treated with between 1 and 10% short chain cross-linking agents [4]. These observations elicited research aimed at providing a better understanding of the basis of the unique features of cross-linked high amylose starch. Image analysis of transmitted light was used to describe water transport kinetics and swelling properties of matrices while solid-state ^{13}C -NMR was used to study the polymorphic changes occurring during swelling.

2. Experimental

2.1. High amylose cross-linked starch synthesis

Corn starch containing 70% W/W amylose and 30% W/W amylopectin was purchased from National Starch (Hylon VII) and used as such. Hylon VII was dispersed at 16.7% W/V in 1.0 N NaOH at 54°C. After 15 min, epichlorohydrin (0.85% V/V) was then added and allowed to react for 15 min. The suspension was then neutralized by addition of sodium acetate and washed three times by acetone 40% in a Büchner funnel. Cross-linked high amylose starch was then dried using pure acetone and exposition to air at room temperature for 72 h. For studies in humans, cGMP guidelines were followed, acetone was replaced by ethanol 30% and the drying was performed in a spray-dryer. Particle size was increased by granulation with a saturated suspension of high amylose cross-linked starch in a fluidized bed system. Epichlorohydrin and ethanol residues in the

final powder were checked to be inferior to 1 and 100 ppm respectively.

2.2. Image analysis

The technique used has been described elsewhere [5]. Briefly, tablets were placed on a metal mesh in water at 37°C. After the given time intervals, the tablet was removed and frozen in liquid nitrogen, sliced along the axial direction and the slice was transferred to a light transmission image analysis system. In this system, the image is converted into a number of pixels. Each pixel is assigned a grey level intensity proportional to the light transmission intensity. The light transmission intensity is in turn a function of polymer hydration. Grey levels intensities ranging on a 0 to 255 scale were recorded along lines drawn in the axial and radial directions. All experiments were done in triplicate. Unless specified, the degree of cross-linking used for these experiments was 6 (6 g epichlorohydrin for 100 g starch in the reaction).

2.3. Solid-state ^{13}C -NMR

^{13}C CP/MAS spectra were obtained at 75.34 Mhz using a Chemimagnetics CMX-300 spectrometer. The pulse sequence used was a standard cross-polarization sequence with a ^1H pulse width of 4.25 μs (corresponding to a $\gamma_{\text{H}}B_{1\text{H}}$ of 62.5 kHz), a contact time of 1.5 ms and a recycle delay of 2 s. Typically 500–1000 transients were accumulated. Magic-angle spinning was performed at 3.4–4 kHz. Hydration of cross-linked amylose powder samples was performed by placing them in a dessicator maintained at 100% relative humidity. The C1 band corresponds to the polymorphic crystalline arrangements of amylose.

2.4. Pharmaceutical applications

Controlled release tablets containing a drug and high amylose cross-linked starch as a key excipient were prepared by dry mixing and direct compression applying cGMP's. In vitro dissolutions were performed in a USP type III apparatus, at 15 dips/min, with the following sequence: 2 h at pH 2.0, 10 h at pH 7.0 and 18 000 IU bacterial amylase (Sigma, St Louis MO) per ml, 12 h pH 7.0. Young healthy male

volunteers were screened 3 weeks prior to study onset. They were admitted to the center before 8:00 pm the day before drug administration. The drug was given at 8:00 the next morning and blood samples were taken regularly for drug assay. For fasted studies, the subjects were fasted for 4 h before drug intake. For study of the food effect, the volunteers received the standardized FDA Fat Breakfast and took the drug no longer than 5 min following the end of their meal. Subjects were kept in the center until after the 24-h sampling time and were then free to go. They came back for the 36- and 48-h sampling. In all cases the study design is a single dose cross-over with 12 subjects.

3. Results and discussion

3.1. Image analysis

Figs. 1 and 2 show the radial and axial dimensional changes of high amylose cross-linked starch during hydration over 60 min. A rapid size increase was noted in both directions over the first 5 to 10 min. Afterwards, the axial size increase, as expressed as a percentage of initial size, was steady and slow. In the radial direction, after the initial burst, the swelling came to a near halt and then, after 30 to 35 min resumed rapidly.

Fig. 3 shows that a gel was formed in 5 min on all surfaces of the tablets. After this time point, the

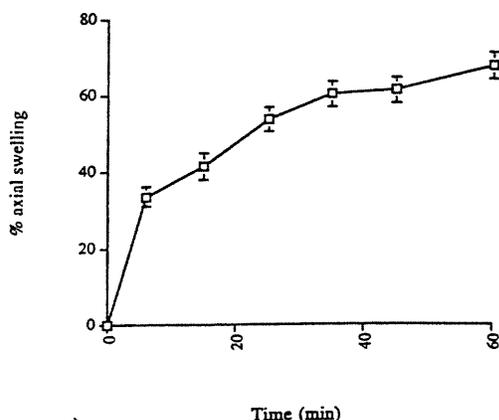


Fig. 1. Axial dimensional change of high amylose cross-linked starch tablets in water at 37°C.

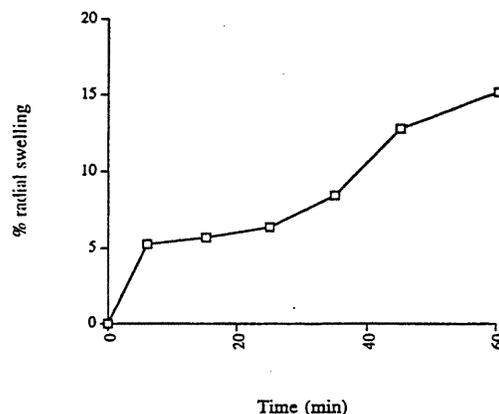


Fig. 2. Radial dimensional change of high amylose cross-linked starch tablets in water at 37°C.

increase in gel thickness became very slow. However axial and radial swelling appeared to parallel. Hence this does not explain the differences in dimensional change kinetics noted above. Thus it was assumed that core swelling might be involved as noted by Rajabi-Siahboomi et al. for hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) matrices [6]. This was studied by plotting the distance between the gel-dry polymer interface and the physical center of the tablet versus time.

In the axial direction (Fig. 4), the gel-dry polymer interface initially progressed rapidly toward the center of the tablet and then remained at a fairly constant distance. Thus the increase in gel layer thickness was directed outward and the slow and

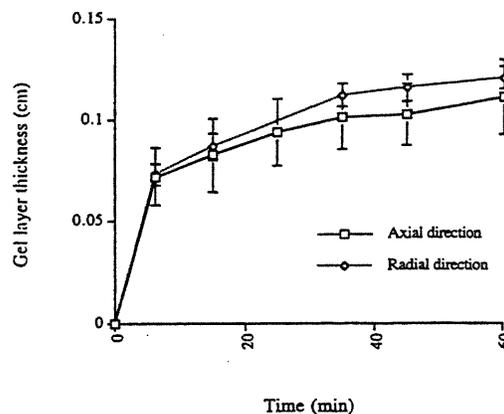


Fig. 3. Gel-layer thickness dimensional change of high amylose cross-linked starch tablets in water at 37°C.

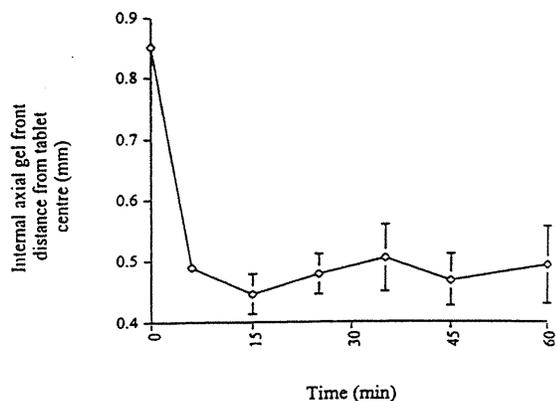


Fig. 4. Evolution of gel front to tablet center distance in the axial direction in high amylose cross-linked starch tablets in water at 37°C.

steady size increase may be considered as paralleling gel layer expansion. The apparent absence of inward gel front progression is probably the result of a slow core expansion that counterbalances inward gel progression.

In the radial direction (Fig. 5), the gel front progressed toward the center for 25 min and then was pushed away by a fast expansion of the core. Grey levels intensity plotting along the radial direction (Fig. 6) indicates that water is distributed as a steep gradient which reaches the tablet center in 25 min. As water pervades the core, plasticization ensues, allowing for core deformation under the constraints imposed by gel expansion. These results

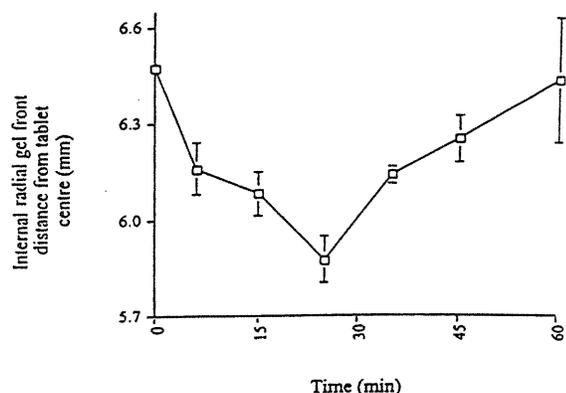


Fig. 5. Evolution of gel front to tablet center distance in the radial direction in high amylose cross-linked starch tablets placed in water at 37°C.

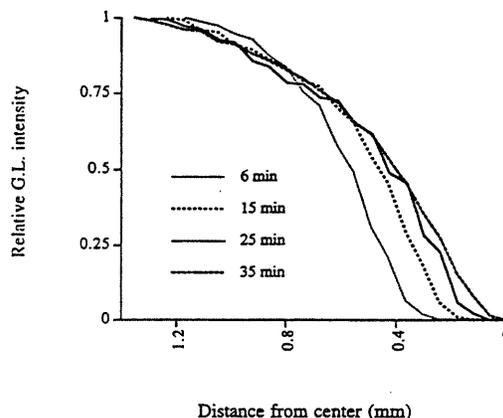


Fig. 6. Plot of the grey levels intensity along the radial direction in the first 60 min of high amylose cross-linked starch tablets placed in water at 37°C.

differ from those of Rajabi-Siahboomi et al. [6] who noted an axial expansion and a radial shrinkage of the core in HPMC tablets. As these authors had assigned the difference in axial and radial expansion to differences in viscoelastic deformation during tablet compression, it is clear that the viscoelastic deformation of HPMC and high amylose cross-linked starches are dissimilar. More recently, correlations have been established between the dimensional changes in the first 60-min period and drug release control [7].

In a previous paper [8] the water gradient had been determined along the radial axis over a time period of 72 h. It was observed (Fig. 7) that following initial gel formation, the gel front did not progress toward the center of the tablet and that the gel-layer thickness was nearly constant. Water continued to penetrate the core and the gradient progressively leveled off until sufficient water concentration had been reached for the core to gelify as a whole. This behaviour differs from that of a swelling-controlled system where solvent front penetration rate is a controlling factor [9].

3.2. Solid-state ^{13}C -NMR

Amylose in starch may exist under different polymorphic forms. The V amylose complex is based on simple helix, whereas the A and B complexes, found in natural starch, are based on antiparallel

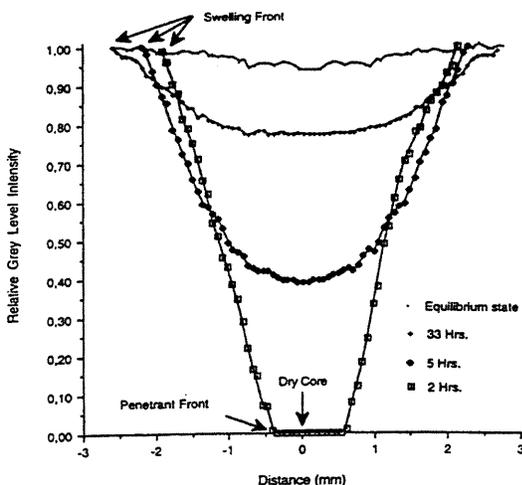


Fig. 7. Plot of the grey levels intensity along the radial direction over 72 h in high amylose cross-linked starch tablets placed in water at 37°C.

double helices and are thermodynamically favoured in the hydrated state [10]. On the ^{13}C CP/MAS spectra, the A and B arrangements give peaks around 101 ppm whereas the V arrangement peaks around 103 ppm. Fig. 8 shows that high amylose cross-linked starches are mainly V amylose irrespective of the degree of cross-linking. However, upon hydration the polymer with the lower cross-linking degree shows a progressive formation of B form (Fig. 9) whereas the polymer with the higher cross-linking degree remains largely in the V form. Amylopectin in starch is present in the form of very high molecular weight (10^8) clusters with a micelle-like behaviour suspended in an heterogeneous gel of amylose of a lower (10^5) molecular weight [11]. Hence it is likely that reactions of epichlorohydrin be favoured at the interface between amylopectin micelle-like clusters and the amylose gel, thereby chemically binding amylose single helices to the interface of amylopectin clusters. A simplified representation of this phenomenon is found in Fig. 10. In this model, at a low cross-linking degree, amylose chains are able to rearrange in double helices, generating a huge three-dimensional network of both chemical and physical links and a relatively tighter network than at a higher cross-linking degree. At higher cross-linking degrees, the ability of amorphous amylose chains to rearrange in double helices

is probably hindered by the increased density in cross-links and hence a reduced mobility of the amylose chains. The tighter network obtained with a lower cross-linking degree might explain some of the earlier observations such as the decrease in equilibrium swelling and the lower water uptake and drug release rates with decreasing cross-linking degree [12].

3.3. Pharmaceutical applications

Recent developments in the field of pharmaceutical applications of high amylose cross-linked starch include the formulation of generics of Efidac and Voltaren SR. A branded generic of diclofenac was also developed.

Efidac is an OROS dosage form containing 240 mg pseudoephedrine hydrochloride. Under our in vitro dissolution conditions, 25% of the dose was released immediately and the rest was released in roughly 18 h at a quasi zero-order kinetics. Pseudoephedrine hydrochloride is very soluble in water and the first results obtained with matrix systems indicated that it would be nearly impossible to extend the release beyond a period of 8 h. Profiles identical to those of Efidac were only obtained when dry-coated tablets were prepared which contained a higher drug concentration in the core than in the dry coat. The dry coated tablets were finally film coated and 40 mg of the active ingredient was dispersed in the film for immediate release. The composition of the film coated dry-coated tablets was:

Core:	Cross-linked amylose (cross-linking degree=4)	44 mg
	Pseudoephedrine HCl	128 mg
Dry coating:	Cross-linked amylose (cross-linking degree=4)	406 mg
	Pseudoephedrine HCl	72 mg
	Hydroxypropylmethylcellulose 2208	120 mg
Film coating: Pseudoephedrine HCl	40 mg	
	Film coating excipients	31 mg

The reference and the test formulations were tested in a cross-over single dose study in 12 fed volunteers. The results (Fig. 11) indicate a fairly good degree of similarity between the two plasmatic concentration versus time profiles. The ratio of the geometric means of 0 to 24 h Areas Under the

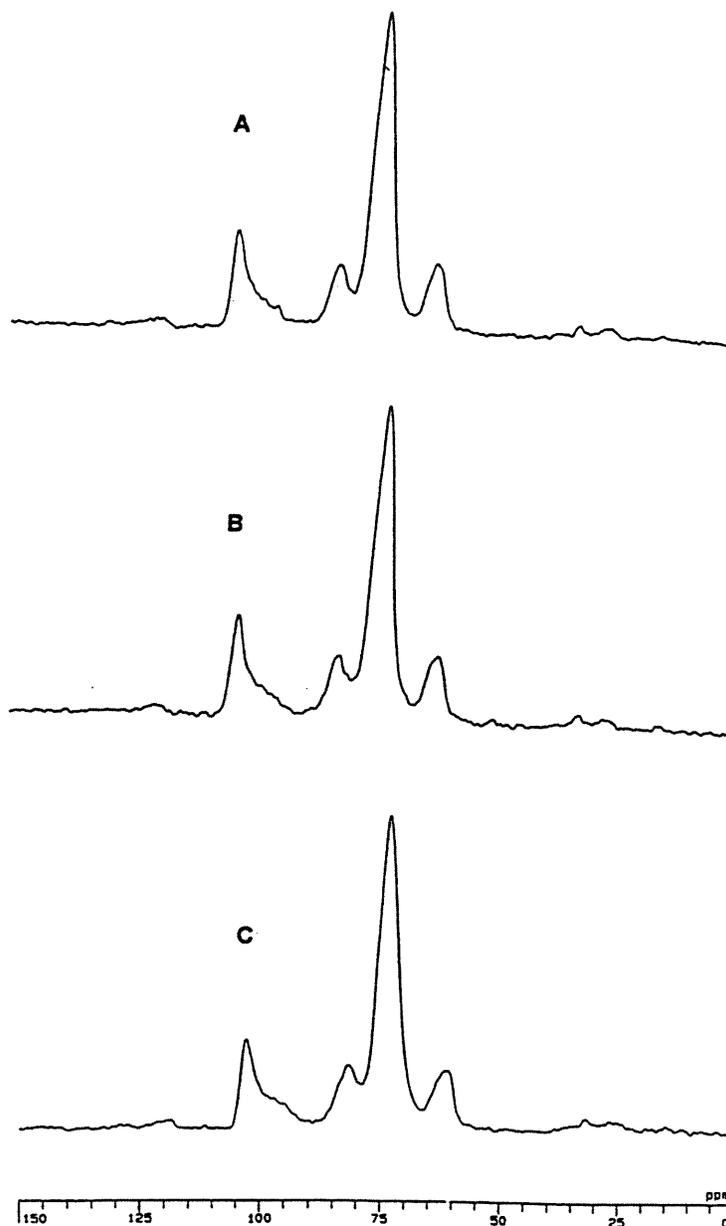


Fig. 8. ^{13}C CP/MAS spectra of high amylose cross-linked starches of varying cross-linking degrees (A=3.0%, B=4.0%, C=6%) in the dry state.

Curves for test over reference had a value of 112%. In addition, a second cross-over of the test formulation in fed versus fasted volunteers showed the total absence of food effect on the test formulation (Fig. 12).

A totally different challenge was offered by Voltaren SR 100 mg, as in this case the release profile is typically Fickian with a proportionality to the square root of time. The reference dosage form releases 100 mg of diclofenac over roughly 14 h,

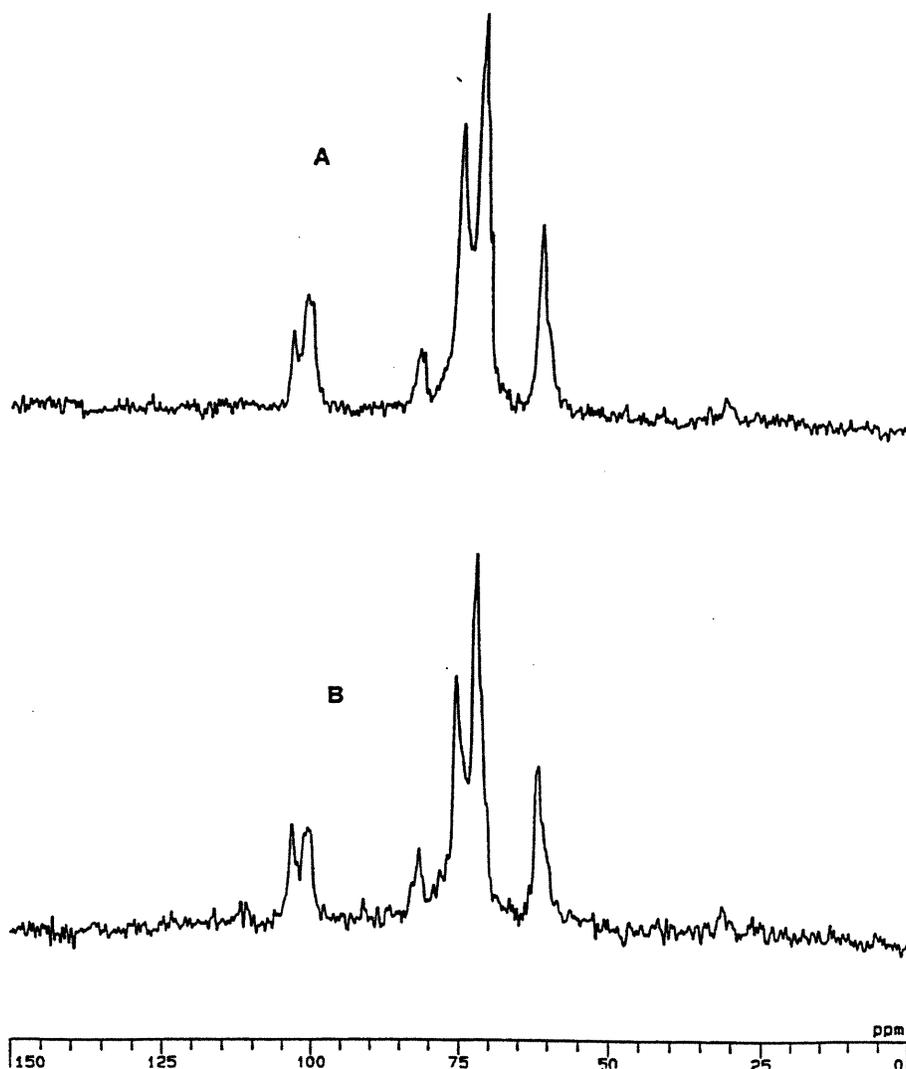


Fig. 9. ^{13}C CP/MAS spectra of high amylose cross-linked starches with varying cross-linking degrees ($A=3.0\%$, $B=4.0\%$) after 72 h at 100% relative humidity.

with a considerable tablet-to-tablet variability. A high amylose cross-linked starch matrix was prepared by direct compression with the following composition:

Diclofenac sodium	100 mg
High amylose cross-linked starch (cross-linking degree=2)	207 mg
Hydroxypropylmethylcellulose 2208/100 000 cps	77 mg
Magnesium stearate	2 mg

Transition from quasi zero-order to Fickian release was obtained by addition of a small percentage of high molecular weight HPMC to the matrix. In vivo study in fed volunteers showed here again a good similarity between the curves obtained for the test and references products (Fig. 13). The ratio of AUC's geometric means was 87%.

Finally, a matrix containing 100 mg diclofenac was prepared aiming at a zero order release over 18

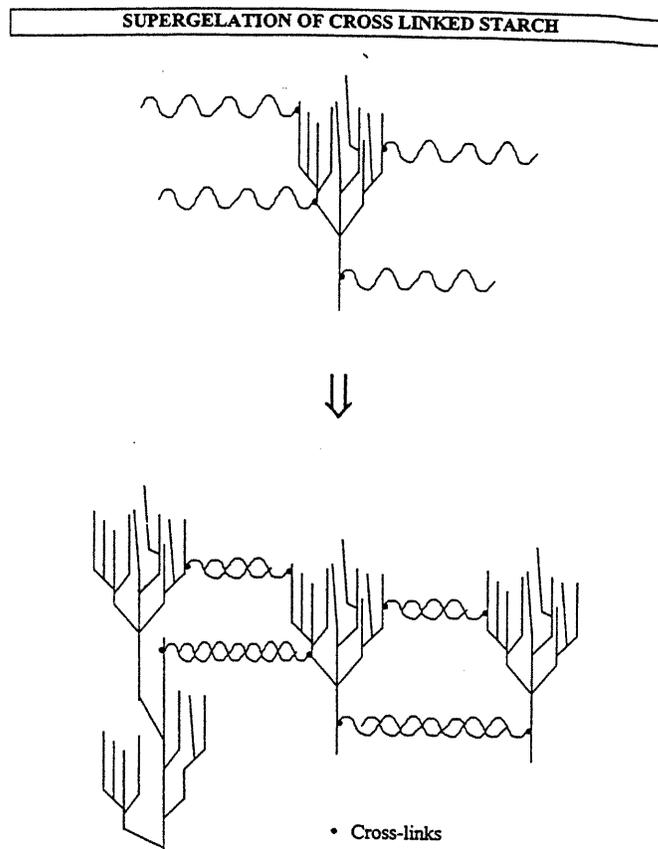


Fig. 10. Schematic representation of a model for the structural arrangement of high amylose cross-linked starch with a low cross-linking degree in the dry and hydrated states.

Concentration (ng/mL) (Mean + Std Dev) versus time (h) curves

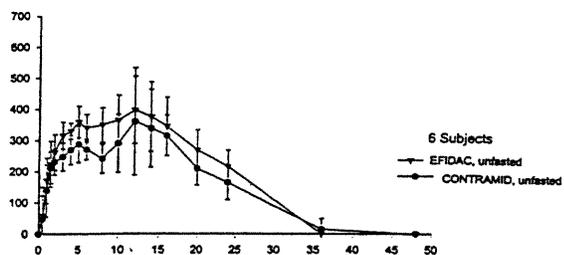


Fig. 11. Plasma concentration versus time profiles of pseudoephedrine in 6 fasted healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of Efidac and a cross-linked amylose tablet.

Concentration (Mean + Std) ng/mL versus time (h) curves

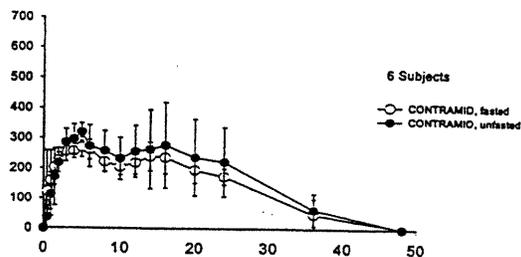


Fig. 12. Plasma concentration versus time profiles of pseudoephedrine in 6 fasted and fed healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of a high amylose cross-linked starch tablet.

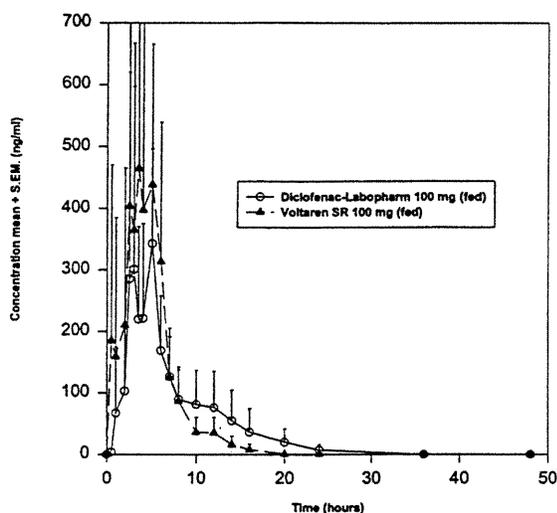


Fig. 13. Plasma concentration versus time profiles of diclofenac in 12 fed healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of Voltaren SR 100 and a generic version prepared using high amylose cross-linked starch.

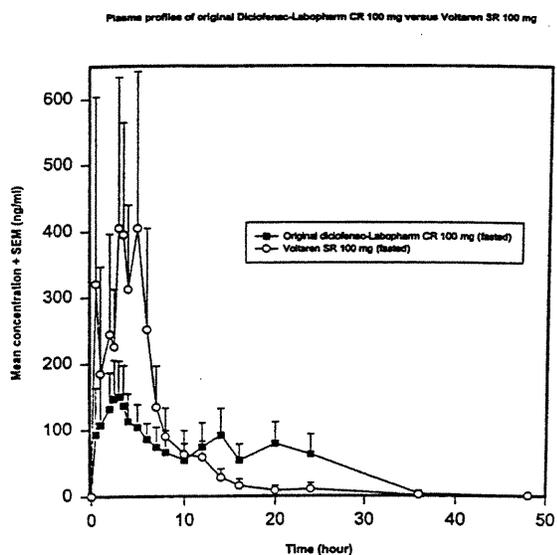


Fig. 14. Plasma concentration versus time profiles of diclofenac in 12 fasted healthy young male volunteers following oral administration of a single dose of Voltaren SR 100 and an original high amylose cross-linked starch tablet.

h, the composition of which is as follows:

Diclofenac sodium	100 mg
High amylose cross-linked starch (cross-linking degree=2)	298 mg
Hydroxypropylmethylcellulose 2208/100 000 cps	100 mg
Magnesium stearate	2.5 mg

Although the composition of this matrix differed only slightly from the one depicted above, its release kinetics was much closer to a zero order and lasted longer. As a result, with high amylose cross-linked starch, plasma concentrations in excess of 50 ng/ml are observed for 24 h whereas the peak following intake is three times lower than that after Voltaren (Fig. 14). This illustrates the versatility of the high amylose cross-linked starch technology since totally different plasma concentration versus time profiles could be obtained with the same cross-linking degree, simply by modifying the percentages of high molecular weight HPMC and of active ingredient.

4. Conclusions

Upon placement of a high amylose cross-linked starch tablet in water, a gel is formed very quickly at the polymer surface. As the progression of the gel front toward the center of the tablet ceases rapidly, water diffuses into the polymer and reaches the center in about 30 min. As water continues to penetrate, the water gradient in the core progressively diminishes and the core expands, mainly radially. This process goes on for several hours, until the core turns into a gel and equilibrium swelling is reached. In the gel state, amylose, which was initially arranged mainly in V type single helices, progressively adopts the B-type double helices conformation, forming a three-dimensional physical network. With high cross-linking degrees however, this transition does not occur. This may explain why these polymers tend to take up water and to release drugs more quickly than their low cross-linking degree homologues. Thus water uptake in high amylose cross-linked starch tablets differs from that in swelling controlled systems, where a front of solvent progresses steadily toward the center, and from hydrophilic matrices where the core expands axially and shrinks radially. In vivo results with different drugs show that high amylose cross-linked starches are highly versatile, have a low inter-subject variability and no food effect. In addition, formulation variables such as tablet geometry and tableting pressure show very little influence on drug release profiles. Finally, as high purity cross-linked starch can be obtained at a low price and high amylose cross-linked starch matrix formulations are manufactured by convention-

al tableting techniques, this technology also ranks among the most cost-effective means of producing controlled-release forms of orally administered drugs.

References

- [1] 21 Code of Federal Regulations Ch. I (4-1-92 Edition), 172.892, pp. 102–103.
- [2] V. Lenaerts, Y. Dumoulin, M.A. Mateescu, Controlled-release of theophylline from cross-linked amylose tablets, *J. Control. Release* 15 (1991) 39–46.
- [3] V. Lenaerts, Y. Dumoulin, L. Cartilier, M.A. Mateescu, Cross-linked amylose tablets for controlled release of Drugs, *Proceed. Intern Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 19 (1992) 30–31.
- [4] M.A. Mateescu, V. Lenaerts, Y. Dumoulin, Cross-linked material for controlled release of biologically active compounds, U.S. Patent N° 5 618 650, 1995.
- [5] I.S. Moussa, L.H. Cartilier, Characterization of moving fronts in cross-linked amylose matrices by image analysis, *J. Control. Rel.* 42 (1996) 47–55.
- [6] A.R. Rajabi-Siahboomi, R.W. Bowtell, A. Henderson, M.C. Davies, C.D. Melia, Structure and behaviour in hydrophilic matrix sustained release dosage forms: 2. NMR-imaging studies of dimensional changes in the gel layer and core of HPMC tablets undergoing hydration, *J. Control. Rel.* 31 (1994) 121–128.
- [7] I.S. Moussa, V. Lenaerts, L.H. Cartilier, Image analysis studies of water transport and dimensional changes occurring in the early stages of hydration in cross-linked amylose matrices, *J. Control. Release* (submitted).
- [8] I.S. Moussa, L.H. Cartilier, The influence of the cross-linking degree on drug dissolution, water uptake and swelling profiles of cross-linked amylose matrices, *Proc. 1st World Meeting APGI/APV, Budapest, Hungary, May 1995.*
- [9] P. Colombo, R. Bettini, G. Massimo, P.L. Catellani, P. Santi, N.A. Peppas, Drug diffusion front movement is important in drug release control from swellable matrix tablets, *J. Pharm. Sci.* 84 (1995) 991–997.
- [10] H.W. Hsien-Chih, A. Sarko, The double helical molecular structure of crystalline B-amylose, *Carb. Res.* 62 (1978) 7–25.
- [11] T. Aberle, W. Burchard, S. Radosta, Conformational contributions of amylose and amylopectin to the structural properties of starches from various sources, *Stärke* 46 (1994) 329–335.
- [12] G. Galinsky, W. Burchard, Starch fractions as examples for nonrandomly branched macromolecules 2: Behavior in the semidilute region. *Macromol.* 29 (1996) 1498–1506.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 8.0. CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ

Cross-linked amylose as matrix for drug controlled release. X-ray and FT-IR structural analysis

Yves Dumoulin, Serge Alex, Pompilia Szabo, Louis Cartilier et Mircea Alexandru
Mateescu

Carbohydr. Polym. 37, (1998), p. 361-370.

Accepté et publié

Cross-linked amylose as matrix for drug controlled release. X-ray and FT-IR structural analysis

Yves Dumoulin^{a,b}, Serge Alex^b, Pompilia Szabo^b, Louis Cartilier^a,
Mircea Alexandru Mateescu^{b,*}

^aFaculty of Pharmacy, Université de Montréal, CP 6128-A, Montreal, Quebec, Canada H3C 3J7

^bDepartment of Chemistry-Biochemistry, Université du Québec à Montréal, CP 8888, Succ. A, Montreal, Quebec, Canada H3C 3P8

Received 5 February 1998; revised 12 May 1998; accepted 14 May 1998

Abstract

For cross-linked amylose (CLA) tablets prepared by direct compression, a linear increase in cross-linking degree (cld) defined as percentage of epichlorohydrin cross-linker/polymer, generates non-monotonous variation of drug release time. Controlled release (up to 20–24 h) properties were obtained only for tablets from CLA (ContramidTM) with relatively low cld (CLA-2 up to CLA-6). Moderate increase in cld (CLA-15) generates a sharp decrease in the release time (2–6 h). This is a particular characteristic of the CLA matrix. The controlled release properties were related to the X-ray pattern of the dry CLA network. The increase in cld induces a transition from B-type (double helix) to a predominant V-type (single helix) and to more amorphous conformation of CLA powders. Furthermore, FT-IR data indicated low free water content at low cld. For low cross-linked CLA, chains are closely located and stabilized by HO groups involved in hydrogen bonding and thus more resistant to hydration and more appropriate for the control of drug release. © 1998 Elsevier Science Ltd. All rights reserved.

Keywords: Cross-linked amylose (CLA); Cross-linking degree (cld); FT-IR data; X-ray analysis; Drug controlled release

1. Introduction

Cross-linked amylose (CLA) obtained by high amylose starch cross-linking with epichlorohydrin (Serban et al., 1975), was introduced in the early nineties as a polymeric material for drug controlled release (Lenaerts et al., 1991; Lenaerts et al., 1992; Mateescu et al., 1992; Mateescu et al., 1994) under the brand name Contramid[®].¹ For CLA tablets prepared by direct compression, it was found that a linear increase in the cross-linking degree (cld²) generates non-monotonous variation of drug release time (Lenaerts et al., 1991; Mateescu et al., 1992). The sustained release and interesting mechanical properties were obtained only for

tablets made from CLA with relatively low cross-linking (Fig. 1). The drug release appears to be controlled only by CLA with a limited range of cross-linking degree from CLA-3 up to CLA-11; maximal release time (20–24 h) was found for CLA-6. Moderate increase in cld (CLA-15) generates a sharp decrease of the release time (2–6 h). High cross-linking degrees (CLA-20 and more) afford disintegrant properties to the CLA (Cartilier et al., 1992; Dumoulin et al., 1994), which may be used as a binder and disintegrant (Liamid[®]). The decrease in release time with increasing cld is a particular characteristic of the CLA matrix and differs from many of the other polymeric matrices for which higher cld leads to longer release times (Kim and Lee, 1992). This particular behaviour of CLA seems to be mostly related to the network organization (probably modified by cross-linking and influenced by compression). A hypothesis that CLA can achieve different network organizations as a function of the cross-linking degree, has been advanced (Mateescu et al., 1993; Dumoulin et al., 1994).

It was supposed that both covalent cross-linking and physical association (closely related to the cross-linking degree of gelatinized high amylose starch), are critical parameters

* Corresponding author.

¹ Contramid[®] is the trade mark of CLA from Labopharm Inc.; Rougier Inc. is the registered manufacturer.

² cld = cross-linking degree defined as the amount of epichlorohydrin (g) used to cross-link 100 g of amylose in specific reaction conditions; i.e. CLA-6 is obtained with an initial ratio 6/100 cross-linking agent/high amylose starch. However, we have to note that it is possible that the final cld can slightly differ to the initial one.

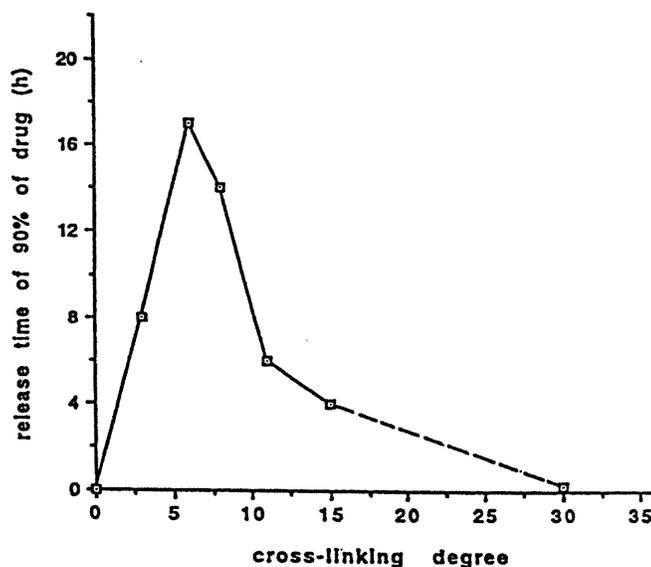


Fig. 1. The influence of cross-linking degree of CLA tablets on the theophylline release time (tablets of 500 mg containing 50 mg of drug).

for the matrix cohesion and responsible for the sustained release properties. Our hypothesis was that both network organization and water access are of determinant importance for the control of the drug release kinetics. We consider that water can have a role in the matrix organization in the CLA tablets. Correlations between water uptake and cross-linking degrees have been previously described by Dumoulin et al. (1994). Aspects of the role of water uptake in the release behaviour of swollen CLA in dissolution media, were recently reported (Moussa and Cartilier, 1996).

The aim of this study is to contribute to the understanding of the structural characteristics in dry form of CLA powders and tablets. These structural achievements will allow a better evaluation of the functional role of the network in the control of the drug release from matrices based on the CLA of different clds. X-ray diffraction data can give information on the long-range order in a semi-crystalline biopolymer like amylose, while data on short-range structural changes can be obtained by FT-IR (infrared) spectroscopy (Koenig, 1992). It is accepted that certain polyhydroxylic compounds (alcohols, polyols, sugars, starch, etc.) can easily hydrate and that water is retained by hydroxyl groups via hydrogen bonding (Rappenecker and Zugenmaier, 1981; Brisson et al., 1991). In the case of dry CLA powders and tablets, we assumed that more crystalline structures are less susceptible to exchange free water, while in the case of amorphous structures, hydroxyl groups are free to be involved in dynamic hydrogen bonding with water. Since the network properties and crystallinity are supposed to be mostly related to the hydration state of HO groups, a study of the water retention has been carried out. From these data it will be possible to get a better understanding and to anticipate the release properties of different CLA matrices, at different cross-linking degrees.

2. Materials and methods

2.1. Materials

High amylose starch powder (corn starch Hylon VII) containing at least 70% amylose (with less than 30% amylopectin), was obtained from National Starch Co. Epichlorohydrin, mono-chloroacetic acid and sodium hydroxide (Sigma), acetic acid and acetone (BDH) as well as the other reagents, were used without further purification. Theophylline in anhydrous form (M.W. 180.2, Sigma) was used as a drug tracer for dissolution tests.

2.2. Synthesis of cross-linked amylose

High amylose starch was cross-linked with epichlorohydrin, in conditions previously described (Mateescu et al., 1995). An amount of 10 g of Hylon VII was swollen in 35 ml of 5 N NaOH at 0–2°C and homogenized on an ice bath for 30 min. For the preparation of CLA-6, an amount of 0.6 g of epichlorohydrin ($d^{20} = 1.1812$) was slowly added and the homogenization continued for another 30 min on the ice bath. The reaction medium was then heated for 1 h at 40–45°C and then for another 2 h at 60–75°C, for completion of the cross-linking reaction. After reticulation, the gel was suspended in water, neutralized to pH 6–7 with acetic acid and thoroughly washed by subsequent decantations with water. The wet gel was then sieved retaining grains of 75–300 μm and first precipitated with a solution of acetone/water 85/15 (v/v), then washed by decantation with solutions of acetone water 40/60 (v/v) and finally dried with acetone 100% (Ghetie and Schell, 1971).

Epichlorohydrin cross-linked high amylose starch (although it contains up to 30% amylopectin) will be

referred hereafter as cross-linked amylose (CLA). For the preparation of other CLA materials with different clds, the same procedure was followed, except that different amounts of epichlorohydrin were used, to obtain the desired cld (i.e. for CLA-11, the required amount of epichlorohydrin was 1.1 g, while for CLA-20, the amount was of 2 g). The CLA-0 was not cross-linked.

2.3. Synthesis of carboxymethyl amylose (CM-CLA-20)

CLA-20 was functionalized with carboxymethyl groups by treatment with monochloroacetic acid, as previously described (Schell et al., 1978). An amount of 10 g of CLA-20 was swollen in 10 N NaOH at 0–2°C and homogenized on an ice bath for 10 min. Then, an amount of 20 g monochloroacetic (α -chloroacetic) acid solubilized in a minimal volume of water was added rapidly and the homogenization continued for another 10 min on the ice bath. The reaction medium was then heated for 1 h at 60–75°C, for reaction. After carboxymethylation, the gel was suspended in water and then thoroughly washed by filtration with water, until pH 7.

The CM-CLA-20³ was obtained in two forms: Na salt (Na⁺-CM-CLA-20) and acid (protonated) form (CM-CLA-20 acid). The salt (Na⁺-CM-CLA-20) was obtained by direct acetone drying of the carboxymethylated product (after washing until pH 7). For the protonated form, CM-CLA-20 was treated with 1 N acetic acid (the activation of CM-groups) and then thoroughly washed with water until neutralization. In both cases, the wet gels were sieved retaining grains of 75–300 μ m. Both suspensions, CM-CLA-20 salt and CM-CLA-20 acid, were washed and dried with acetone (Ghetie and Schell, 1971), as described before. The amount of CM-groups (0.86 mEqiv/g dry product) was established by potentiometric titration (Corning 250) of determined amounts of CM-CLA-20, with a calibrated 0.1 N NaOH solution. The swelling volumes (expressed in ml/g) of CM-CLA-20 salt and acid forms were obtained by swelling 1 g of each dried powder in distilled water at 22°C and measuring the bed volume stabilized after 24 h.

2.4. Tablet preparation

For X-ray diffraction studies, tablets of each powder (400 mg) were compressed at 2.3 T/cm² in a die assembly having flat face punches and using a Carver hydraulic press.

2.5. Drug dissolution analysis

Drug release was followed in a USP XX (Kalish) apparatus (37°C, 50 rpm, 11 dissolution cells), recording the release kinetics of theophylline at 254 nm, for 24 h. For

³ CM-CLA-20 = carboxymethyl-CLA-20.

each polymeric excipient, theophylline and CLA powders were dry mixed in a Turbula mixer for 5–10 min. Tablets of 500 mg (12.7 mm diameter and 2.7 mm thickness), containing 50 mg theophylline, were obtained by compression at 2.3 T/cm² using the die assembly with flat face punches in the Carver hydraulic press.

2.6. X-ray diffraction analysis

2.6.1. Instrument

Siemens K IV diffractometer with cobalt cathode operating in reflectance mode at Co-K α wavelength ($\lambda = 1.79018 \text{ \AA}$), 30 kV and 16 mA, equipped with a graphite monochromator and scintillation detector. Peak positions and their relative intensities for CLA of different clds, in tablet and powder form, were considered for discussion.

2.7. FT-IR analysis

Absorbance spectra were recorded on a Perkin Elmer spectrophotometer equipped with a DTGS (deuterated triglycine-sulfate) detector. Samples were prepared with 6% (w/w) CLA powders (particle size below 50 μ m) dispersed in KBr pellets (100 g). All powders were dried at 105°C for 24 h before tableting with KBr and several CL-amyloses, of different clds, were used. Typically, 256 scans were recorded with a 4 cm⁻¹ resolution.

For the calculation, the absorbance of the bending mode of the water detected at 1646 cm⁻¹ was normalized by dividing the peak area (1646 cm⁻¹) by the peak area of the CH₂ modes at 2928 cm⁻¹. The latter was corrected for the water contribution by using spectral deconvolution.

2.8. Water evaporation kinetics

Before measurements, all powders were exposed to water vapor at 50°C for 24 h in a closed vessel in order to saturate the samples with water. The samples were then dried at 50°C in the oven for 7 hrs. Thus, CLA powders lose water, finally reaching a constant mass. During this treatment, samples were withdrawn periodically and weighed. The differences between the initial and the final mass correspond to the water lost. This parameter represents the estimated amount of water retained by powders. For most of the samples, this amount ranged between 14 and 22% of the initial mass. From these data, the rates of water evaporation for CLA powders at various clds can be determined. These experiments also allowed the determination of the water evaporation half-time (defined as the time required to evaporate 50% of the initial water content).

3. Results and discussion

Cross-linked amylose exhibits particular properties as

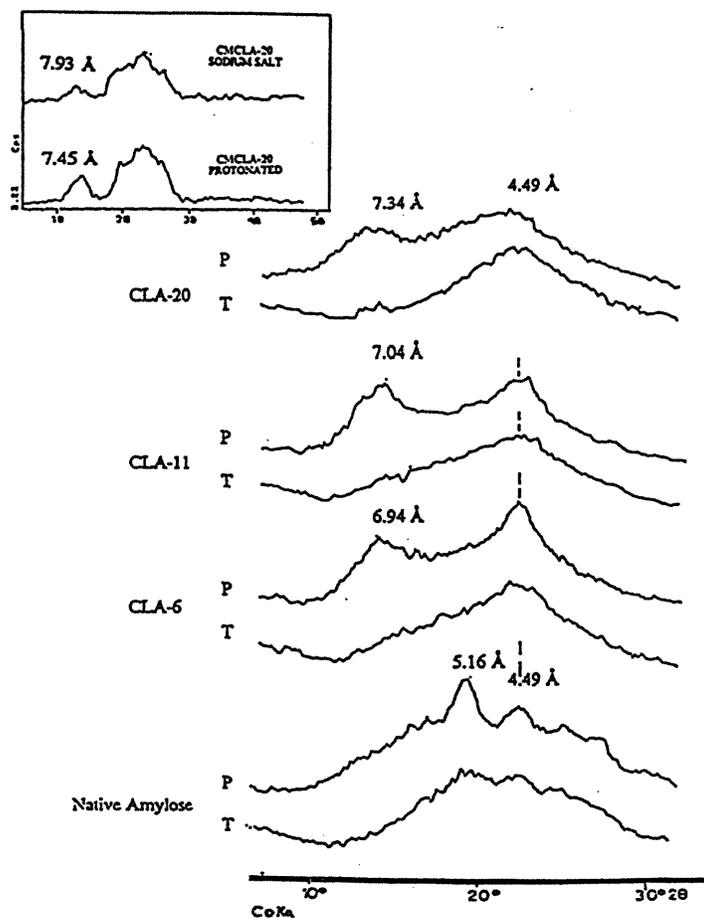


Fig. 2. X-ray diffraction pattern for native and CL-amylose of various cross-linking degrees in powder (P) and tablet (T) forms. Insert: CMCLA-20 (protonated) and CMCLA-20 sodium salt.

polymeric material (excipient) for the formulation of pharmaceutical forms where the drug release is controlled only for a limited range of cross-linking (Fig. 1). The cross-linking is essential for the tablet cohesion, but the cld should be low enough to generate a good control of the drug release. We supposed that a low cld allows the network to be stabilized by physical association, which is also essential to obtain controlled release properties. X-ray diffraction, FT-IR and water evaporation kinetics can contribute to a better characterization of the structural organization and physico-chemical behaviour of polymeric materials used in drug controlled release and to adjust preparative procedures for the best release properties.

3.1. X-ray diffraction study

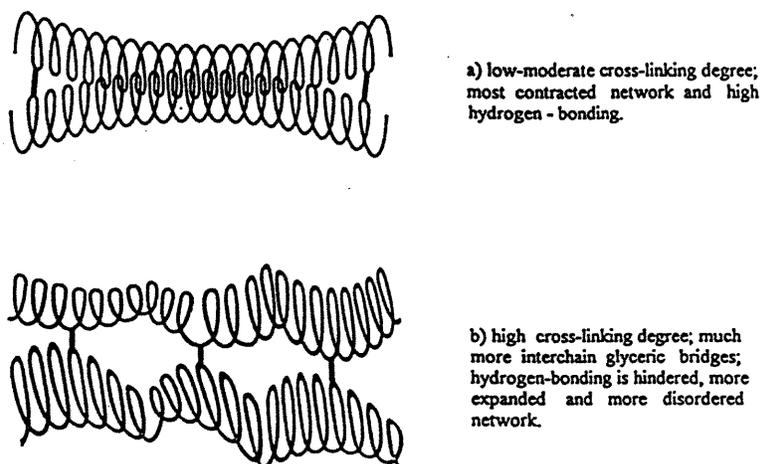
CLA is a semi-crystalline polymer and therefore X-ray diffraction is expected to give only a general image of network organization for CLA powders and tablets. Different

X-ray patterns were observed for the powders (P) and tablets (T), as a function of cld (Fig. 2).

3.1.1. CLA-powders

For native amylose (Hylon VII) powder, two broad diffraction maxima centred on angular ranges of 19.5–20.5° and 23.5–24° (corresponding to 5.16 and 4.49 Å, respectively) were found. These values are characteristic of the B-type diffraction pattern (Zobel, 1988a; 1988b). By cross-linking (involving gelatinization and reticulation), the three-dimensional structures of CLA powders were altered and different X-ray patterns were found. Although extensive X-ray studies have been done on amylose or on starch, to our knowledge only a few X-ray data on CLA are available (Shefer et al., 1992), where cross-linking was realized in conditions different to ours. Thus, some of the obtained X-ray peaks of CLA could be ascribed by analogy with non-modified amylose and starch diffractograms.

With increasing cross-linking (CLA-6 – CLA-11) the 5.16 Å peak practically disappeared, while the 4.49 Å



Scheme 1. Hypothetical representation of the covalent and H-bonding stabilization of CLA for low-moderate (a) and high (b) cross-linking degree. This simplified model of a limited network section shows that at hydration only low cld will favor enough chains to mobilize allowing their stability by H-bonding.

peak became more important, but broader. At the same time, a new peak appeared at 6.94–7.04 Å (2θ angle of 15°). For higher cld (CLA-20), the diffractogram showed a general loss in crystallinity of the powder, surprisingly, associated with the shifting of the 6.94 Å peak to 7.34 Å. The modifications in the X-ray diffraction patterns for powders could be correlated with physical and chemical transformations undergone by cross-linking and drying processes. In a first step, cross-linking involves gelatinization in alkaline media, leading to partial or complete disruption of the initial order of the native high amylose starch granule. By covalent cross-linking and drying, a new type of order and a new morphology can appear. Increasing cross-linking density (the glycerine bridges introduced by epichlorohydrin reaction) may limit the mobility of chains and, consequently, hinder the formation of advanced ordered structures (i.e. double helix). Instead, less organized structures and a peak at 6.95–7.34 Å (considered a kind of pseudo V-type) can become predominant. In our experimental conditions, the most predominant peak at 5.16 Å for the native amylose (Hylon VII) practically disappears by cross-linking; it is then possible to assume that this distance (5.16 Å) is related to the presence of the B-type double helix structure, organized in crystalline regions. The peak at 4.49–4.50 Å (Fig. 2) can tentatively be ascribed to the pitch of helix coils stabilized by H-bonding (calculated length 5–5.7 Å).

The presence of the 6.94–7.34 Å peak can be ascribed to the V-type single helix and the continuous shift at higher clds associated with a larger structure (pseudo V-form) of CL-amylose. The V-type helix is a form of order existing in both crystalline and amorphous regions (Veregin et al., 1987). The overall diffraction patterns for increasing cld become broader (possible overlap of peaks corresponding to larger structures).

In order to elucidate the significance of the 6.94–7.34 Å

shift, additional X-ray diffractograms were recorded with the carboxymethyl amylose (CM-CLA-20) derivative, in both sodium salt (carboxylate, $-\text{COO}^- \text{Na}^+$) and protonated ($-\text{COOH}$) forms. These two forms were different from each other and different from the non-derivatized CLA-20, in terms of X-ray pattern and water retention. Both forms of CM-CLA-20 showed large and diffuse X-ray peaks suggesting lower crystallinity than CLA-20. Interestingly, CM-CLA-20 (protonated) showed a shift of the peak at 7.34 Å (for CLA-20) to 7.45 Å, while for the sodium salt, the shift was even higher, up to 7.93 Å (Fig. 2, insert). Thus, CM-CLA-20 acidic and salt forms, showed a low crystallinity and high water retention and swelling. The sodium salt of CM-CLA-20, had the highest water retention and swelling volume (90 ml/g), while for the protonated form the swelling was of 28 ml/g. Previous studies on amylose crystallinity pointed out that with the transition from anhydrous (V_a) to hydrated (V_h) single helix, a displacement to smallest angular range was observed and correlated with a larger structure (Zobel et al., 1967). Thus, it is possible to assume that amylose derivatization may be correlated with the X-ray peak shift, corresponding to the larger size in the structure. This peak (6.94–7.34 Å) can, in certain limits, be ascribed to single helix (type V), which becomes larger when new functional groups are grafted on the chains. These data support our hypothesis that increase in cld and substitution can generate a transition from helix to random coil of the polysaccharidic chains.

The X-ray data for powders and tablets can be correlated with the drug release kinetics. The longest theophylline release times were obtained with CLA-6 compared to the other CLAs (Fig. 1). The CLA-6 presented a moderate crystallinity, where both B- and V-type diffraction patterns were found (Fig. 2) and showed the smallest size (6.94 Å) for the V-type structure. Hydrogen bonding is known to be greatly

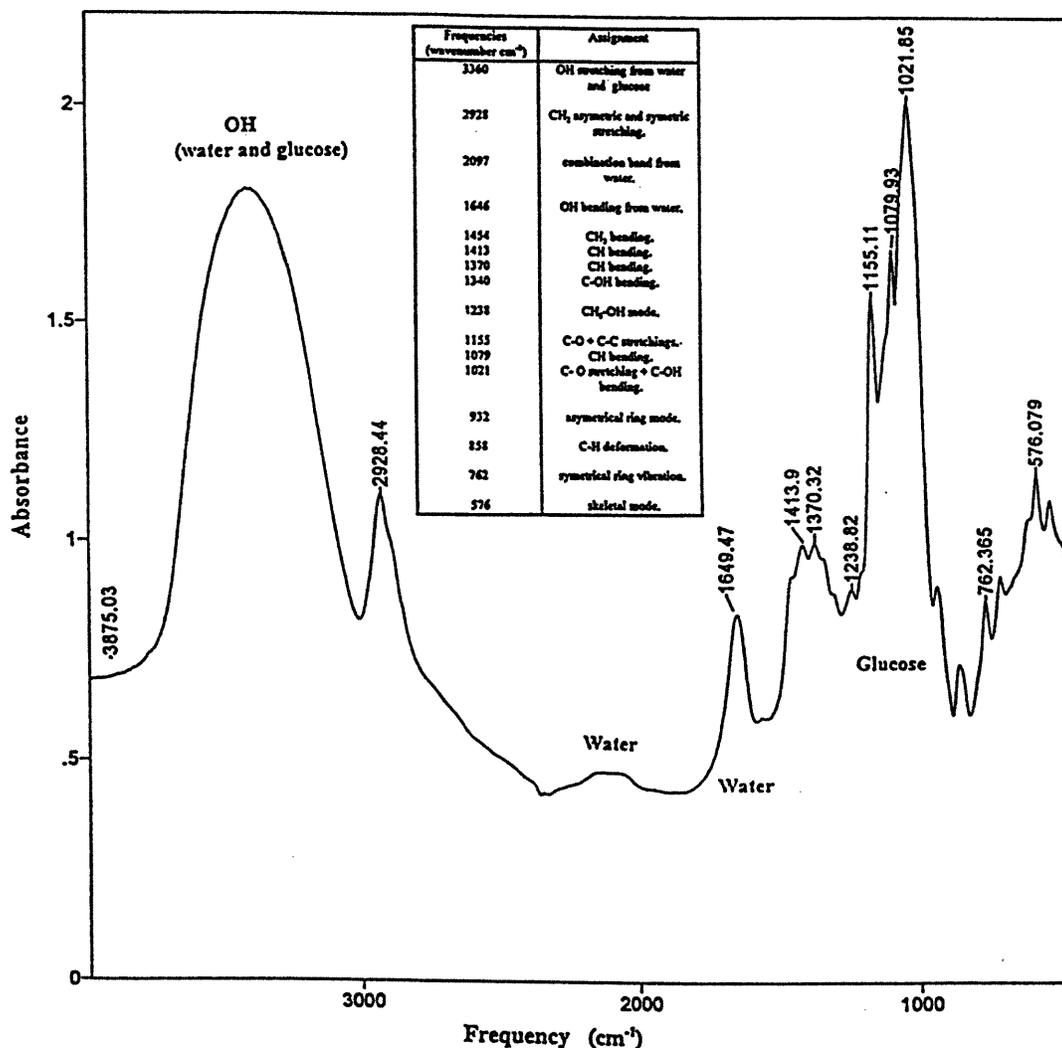


Fig. 3. Typical FT-IR spectrum of CLA-6 with the assignment of the main bands.

involved in amylose and starch crystallinity (Brisson et al., 1991; French, 1984; Imberty et al., 1988). Since the longest release times were obtained with low cld (CLA-6), which shows a higher degree of crystallinity when compared to CLAs with higher clds (more amorphous), these results suggest that a structure with a low chemical modification (having the higher ordered organization) is desired for good drug controlled release properties. Low cross-linked amyloses, with higher chain mobility (i.e. CLA-6), have a higher availability to assume conformations in which hydrogen bonding are greatly involved (Scheme 1). A high cld limits the chain flexibility. Furthermore, a high density of inter-chain glycerine bridges (calculated length of 8.64 Å, Mateescu et al., 1984), will not allow the chain stabilization by hydrogen bonding (as hypothetically presented in Scheme 1). Thus, these high cross-linked amyloses have many hydroxyl

groups free to hydrate and swell. This water can be easily lost and is different from the water retained in the helix channels (i.e. 36 molecules per elementary cell for B-type form). In fact, B, A and V high crystalline forms are more hydrated than less crystalline conformations which, however, can easier be hydrated or dehydrated.

Since the starting material was high amylose starch, cross-links are also possible between amylose and amylopectin polysaccharidic chains (Marchessault et al., 1998; Lenaerts et al., 1998). It is known that amylopectin is responsible for native granular starch crystallinity (French, 1984). In the CLA synthesis the initial order of the high amylose starch is disrupted and it is possible that after gelatinization, cross-linking and drying, amylopectin could assume another role. Being large and branched, amylopectin may indeed prevent the amylose chains from coming close to each other and

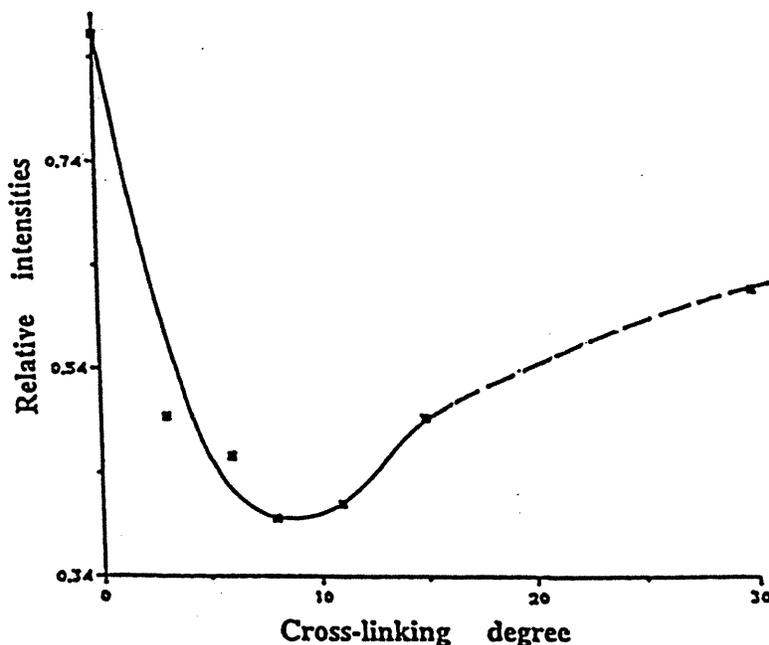


Fig. 4. Relative intensities of FT-IR water deformation vibration mode ($A_{1646\text{cm}^{-1}}/A_{2928\text{cm}^{-1}}$) as a function of cross-linking degree. Before tableting in KBr the powders were dried at 105°C for 24 h.

from reaching an advanced ordered structure (type B double helix). Hence, the ratio amylose/amylopectin could be an important parameter for the tri-dimensional structure and for drug control release properties. Previous data has shown that cross-linked starch or cross-linked amylopectin alone are not adequate for release control. Aspects of optimal ratio amylose/amylopectin will be dealt with in a further note.

For increasing values of cld from CLA-6 to CLA-20 powders, the diffractograms show a loss in crystallinity, which can explain the low potential to form double helix structures (gelification) and thus the faster hydration of the matrix. This is consistent with the reported short release times and poor mechanical stability for CLA of higher clds (Lenaerts et al., 1991).

3.1.2. CLA tablets

For tablet forms, only a diffuse peak at 4.5 Å can be observed for all the CLA types (Fig. 2), irrespective of the cld, clearly indicating a loss in crystallinity (compared to the corresponding powders). A unique diffuse peak signifies that after compression, the size around 4.49–4.50 Å becomes predominant in the tablet network, while the other size elements observed in powders (i.e. 6.94–7.43 Å) become negligible. Only for tablets made from CLA-20 (high cld) was an additional low peak observed (at 15°, corresponding to 7.04–7.10 Å).

The native high amylose starch tablet form showed the

same loss of crystallinity in comparison to powder. For the tablets, the X-ray profile is diffuse, with a maximal peak (18–20°) corresponding to a size of 5.16 Å, and a minor one, corresponding to 4.49 Å (similar, but not identical to the powder profile). Native amylose tablets differ also to the CLA tablets. Diffractograms suggest that native amylose tablets still retain elements of double helix (B-type), but to a lesser extent than the powder. Despite the relative high degree of crystallinity, native amylose is not a good matrix for drug controlled release (in fact, it is known as a tablet disintegrant [Trubiano, 1983]). Covalent stabilization of gelatinized high amylose starch in addition to physical stabilization, seems to be essential for good release profiles. These can be obtained only with low cross-linked CLA-6 tablets.

3.2. FT-IR analysis

The availability of hydroxyl groups to be involved in a dynamic exchange with water is known to affect the three-dimensional structure and the network properties. It was of interest to evaluate by FT-IR analysis whether physical associations are involved in the CLA network stabilization. FT-IR absorbance spectra have been used to record the hydration state of these polymers. Fig. 3 shows a typical FT-IR spectrum of CLA in KBr pellets. The main IR bands and their tentative assignments are summarized in the insert (Fig. 3). Vibrational modes of amylose are known to be very

similar to the ones of glucose (Vasko et al., 1972; Cael et al., 1973) and occur at approximately the same frequencies. This assumption could be extended to CLA. The main IR features remain identical to those reported in Fig. 3, whatever the clds. The spectra are dominated by a broad band assigned to the stretching vibration modes of HO-groups from water and from polymer, at ca. 3360 cm^{-1} . This band tends to broaden and becomes more and more asymmetric when the cld increases. However, these variations can not be directly assigned to variations in H-bonding or water concentration as there is an overlap of these vibrations. Other IR domains give more valuable information on the hydration state of the polymers. With the increase in clds, a staggered band due to the libration mode (libration is a lattice mode of vibration) of water molecules appears below 1000 cm^{-1} , indicating that the water content increases. This is confirmed by the rising of the broad profile observed at ca. 2200 cm^{-1} which originates from the mixing of this libration mode and the bending mode of water. This particular vibration is known to be proportional to water concentration and has been used as an internal standard for water subtraction (Dousseau et al., 1989). Unfortunately, this signal is rather weak and cannot be used, in our case, to reliably evaluate the water content. Therefore, the absorbance of the bending mode of water detected at 1646 cm^{-1} was chosen, even if it is known to be slightly sensitive to H-bonding. The plot of the normalized absorbencies of this vibration (Fig. 4) as a function of clds shows that the water content strongly depends on the cld. It was found that for low-moderate clds (from 6 to 11) the polymers exhibit the lowest water content and, after a minimal value, the H_2O content increases again for clds greater than 15. Calculations of normalized absorbencies were realized by dividing the intensity of the peak at 1646 cm^{-1} by the intensity of the peak of CH_2 modes at 2930 cm^{-1} , used as an internal standard (described in the experimental section).

The FT-IR data are in line with the X-ray results showing that for low clds, interchain H-bonds are favoured, possibly tending to further double helix formation and thus reducing the number of hydroxyl groups which can interact with free water. For larger clds, the interchain glyceric bridges create a rigid network with periodic chain sections which may promote water penetration, enhanced by the availability of the free hydroxyl group to hydrate and to swell. Except for the water modes, the other IR bands are of little help as they are poorly resolved.

3.3. Water evaporation kinetics

Evaporation kinetics can give information on the water state, important for a better understanding of the network organization. At room temperature ($18\text{--}22^\circ\text{C}$) and humidity, all CLA samples (stored in closed glass

bottles) contained between 7 and 11% water. The upper value is consistent with reported results for native amylose, known to retain 10–17% water, depending on structural features and storage conditions (French, 1984).

The plot of percentage of free water lost at half-time evaporation as a function of cld (Fig. 5) has a similar shape as the one derived from the IR data (Fig. 4). The minimum observed for CLA-6–CLA-11, supports the fact that water retention is relatively low when the polysaccharidic chains are involved in a double helix formation. Hydroxyl groups being involved in these physical interactions allow only a limited water uptake. Then, for increased clds, the water loss was higher (Fig. 5(a)).

The evaporation rate also provides valuable information. Evaporation data follow a first order kinetics model and the evaporation half-time ($t_{1/2}\text{ H}_2\text{O}$) has been calculated (Dumoulin et al., 1991). The evaporation half-time represents the time required to evaporate 50% of the total content of water. The plot of this parameter as a function of cld (Fig. 5(b)) also exhibits a minimum which coincides with the IR (Fig. 4) and water loss (Fig. 5(a)) data. This is an argument that the water concentration is minimal for intermediate–low clds, as already quoted. From the evaporation rate, it appears easier to remove water from intermediate–low clds than from highly cross-linked amylose. Consequently, the highest percentage of absorbed water is with crystalline amylose (gelatinized, not cross-linked or at very low cld). When cld increased to low and moderate values, there was less crystallinity and less hydration, while at high cld more water can be changed. This is due to the fact that water can only form H-bonds with exposed, available HO groups (frequent in highly cross-linked CLA); for low cross-linked CLA tablets, a larger number of HO-groups are involved in intramolecular H-bonding and therefore are less available for hydration.

4. Conclusions

X-ray diffraction analysis of the chemically modified high amylose starch, conducted in our specific conditions, clearly indicates that the gelatinization and the chemical modification of amylose result in the transition from B form of native amylose (double helix) to a predominant pseudo V form and more amorphous structure of CLA. The structure disorganization is enhanced for CLA powders at increasing cld. The morphological evolution followed by X-ray diffraction analysis was successfully correlated with the release control properties of the CLA materials.

FT-IR data, showing low free water retention for low cross-linking, are consistent with the hypothesis that for CLA of relatively low cld, the amylose chains are more available to be involved in a double helix conformation which is more resistant to hydration. Thus,

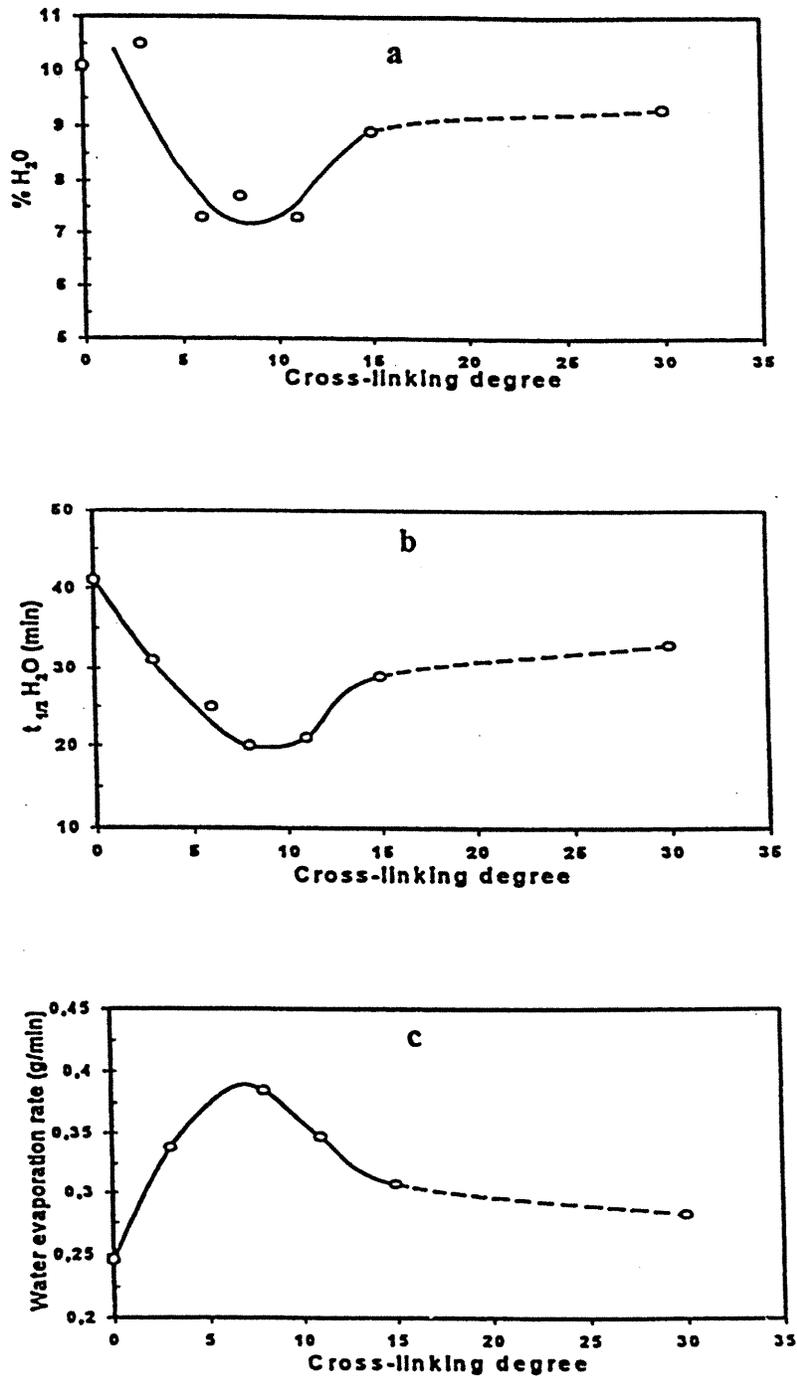


Fig. 5. Water evaporation kinetics: water percentage lost (a) and evaporation (b) at half-time drying of CLA powders (at 50°C in oven) and the evaporation rate (c), as a function of the cross-linking degree. Prior to drying, samples were exposed for 24 h at 50°C in a closed vessel saturated in water vapors.

the water retention is the lowest for CLA of low-moderate cld.

Water evaporation kinetics have shown that networks of CLA of high cld are able to retain more water and the rate of

free water loss is the lowest for these powders. The morphological differences between CLA of various clds, were correlated successfully with the drug control release properties of CLA tablets obtained by direct compression.

Acknowledgements

A doctoral fellowship from the Natural Science and Engineering Research Council (NSERC) of Canada granted to Y. Dumoulin, as well as financial support from Labopharm Inc. and from Rougier Inc. (Canada), are gratefully acknowledged. Thanks are due to Dr. R.H. Marchessault and Dr. V. Lenaerts for helpful discussions.

References

- Brisson, J., Chanzy, H., & Winter, W. T. (1991). *Int. J. Biol. Macromol.*, *13*, 31–39.
- Cael, J. J., Koenig, J. L., & Blackwell, J. (1973). *Carbohydr. Res.*, *29*, 123–134.
- Cartilier, L., Mateescu, M. A., Dumoulin, Y., & Lenaerts, V. (1992). *Int. patent (PCT:WO 94/02121)*.
- Dousseau, F., Thérien, M., & Pézolet, M. (1989). *Appl. Spectrosc.*, *43*, 538–542.
- Dumoulin, Y., Alex, S., & Mateescu, M. A. (1991). FT-IR measurements of the hydration and retention of H-acceptor molecules as a function of cross-linking amylose degree. *EuroCarb VI*, Abstracts volume, Edinburgh.
- Dumoulin, Y., Clement, P., Mateescu, M. A., & Cartilier, L. (1994). *STP Pharma Sci.*, *4*, 329–335.
- French, D. A. (1984). Organization of starch granules. In R. L. Whistler, J. N. BeMiller, & E. F. Paschall (Eds.), *Starch: Chemistry and technology* (pp. 183–247). New York: Academic Press.
- Ghetie, V., & Schell, H. D. (1971). *Experientia*, *27*, 1384–1385.
- Imberty, A., Chanzy, H., Pérez, S., Buléon, A., & Tran, V. (1988). *J. Mol. Biol.*, *201*, 365–378.
- Kim, C. J., & Lee, P. (1992). *Pharm. Res.*, *9*, 10–16.
- Koenig, J. L. (1992). Applications of IR spectroscopy to polymers. In *Spectroscopy of polymers*. Washington, DC: ACS.
- Lenaerts, V., Dumoulin, Y., Cartilier, L., & Mateescu, M. A. (1992). *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, *19*, 30–31.
- Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., Mateescu, M. A., Cartilier, L., & Marchessault, R. H. (1998). *J. Control. Release*, *53*, 225–234.
- Lenaerts, V., Dumoulin, Y., & Mateescu, M. A. (1991). *J. Control. Release*, *15*, 39–46.
- Marchessault, R. H., Morin, F., Dumoulin, Y., & Ingenito, A. (1998). *Macromolecules* (in press).
- Mateescu, M. A., Cartilier, L., Dumoulin, Y., & Lenaerts, V. (1992). *A short overview. A review published on behalf of Rougier Inc., Montreal*.
- Mateescu, M. A. L., Dumoulin, Y., Delmas, G., Lenaerts, V., & Cartilier, L. (1993). *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, *20*, 290–291.
- Mateescu, M. A., Lenaerts, V., Cartilier, L., & Dumoulin, Y. (1994). Canadian patent (2 041 774).
- Mateescu, M. A., Schell, H. D., Dimonie, M., Todireanu, S., & Maior, O. (1984). *Polymer Bulletin (Berlin)*, *11*, 421–428.
- Mateescu, M. A., Lenaerts, V., Dumoulin, Y. (1995). US Pat. (5 456 921).
- Moussa, I. S., & Cartilier, L. (1996). *J. Control. Release*, *42*, 47–55.
- Rappenecker, G., & Zugenmaier, P. (1981). *Carbohydr. Res.*, *89*, 1–19.
- Schell, H. D., Serban, M., Mateescu, M. A., & Bentia, T. (1978). *Rev. Roum. Chim.*, *23*, 1143–1147.
- Serban, M., Schell, H. D., & Mateescu, M. A. (1975). *Rev. Roum. Biochim.*, *12*, 187–191.
- Shefer, A., Shefer, S., Kost, J., & Langer, R. (1992). *Macromolecules*, *25*, 6756–6760.
- Trubiano, P. C. (1983). US pat. (4 369 308).
- Vasko, P. D., Blackwell, J., & Koenig, J. L. (1972). *Carbohydr. Res.*, *23*, 407–416.
- Veregin, R. P., Fyfe, C. A., & Marchessault, R. H. (1987). *Macromolecules*, *20*, 3007–3012.
- Zobel, H. F. (1988a). *Starch*, *40*, 1–7.
- Zobel, H. F. (1988b). *Starch*, *40*, 44–49.
- Zobel, H. F., French, D.A., & Hinckle M.E. (1967). *Biopolymers*, *5*, 837–845.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 9.0.: DISCUSSION GÉNÉRALE

La recherche de nouveaux systèmes capables de contrôler la vitesse de libération de médicament continue de susciter beaucoup d'intérêt auprès des compagnies pharmaceutiques. Dans le but de répondre à cette demande, les travaux de recherche effectués durant les huit dernières années ont permis le développement d'une nouvelle technologie à base d'amylose réticulé (Contramid[®]) permettant le contrôle de la libération de médicaments.

L'amylose réticulé (AR) est obtenu suite à la gélatinisation de l'amidon à haute teneur en amylose (environ 70 % p/p) et à la réticulation de celui-ci par l'épichlorhydrine en milieu alcalin. Différents taux de réticulation peuvent être obtenus en variant le rapport épichlorhydrine/amidon.

Les travaux antérieurs (chapitre 3.0) ont démontré que l'amylose réticulé constitue un excipient fort intéressant pour la préparation de formes orales à libération contrôlée. Les profils de libération de la théophylline, obtenus à partir d'une matrice de Contramid[®], se rapprochent davantage d'une libération constante et régulière en fonction du temps que d'une libération fickienne. La vitesse de libération d'un principe actif peut être ajustée en sélectionnant un amylose possédant un taux de réticulation adapté. L'obtention d'un profil de libération anormal, une durée de libération reliée au temps nécessaire pour atteindre l'équilibre de gonflement des comprimés et l'absence de transition polymérique de l'état vitreux à caoutchouteux suggéraient l'implication d'un mécanisme de libération autre que la seule diffusion du principe actif. L'hypothèse d'un mécanisme de libération reposant sur la pénétration de l'eau dans le comprimé, provoquant le remplacement des liens amylose-amylose par de nouveaux liens eau-amylose capables de freiner la pénétration de l'eau et la diffusion du principe actif avait été émise.

Ce travail constitue la suite logique de la recherche, du développement et de la caractérisation de l'amylose réticulé.

Transposition d'échelle de la fabrication de l'amylose réticulé

Une première transposition d'échelle de la fabrication de l'amylose réticulé a été réalisée en 1992 permettant la fabrication de lots de 1 kg [Cartilier et al., 1997 (a); Dumoulin et al., 1994, Dumoulin et al., 1993]. En résumé (Figure 9.1.), l'amidon était solubilisé dans l'hydroxyde de sodium permettant ainsi la lixiviation de l'amylose. L'épichlorhydrine liquide était ensuite ajoutée à la solution d'amylose et la réaction était effectuée à 50°C. Le milieu réactionnel était ensuite dilué avec de l'eau, puis neutralisé avec de l'acide acétique concentrée. Un mélange d'acétone-eau était ensuite utilisé pour laver les impuretés produites lors de la réaction et de la neutralisation (résidus d'épichlorhydrine, glycérol, acétate de sodium). L'amylose réticulé était obtenu sous forme de poudre suite à la déshydratation par technique d'échange de solvant avec l'acétone à 100 % et par filtration de la suspension sur entonnoir Büchner.

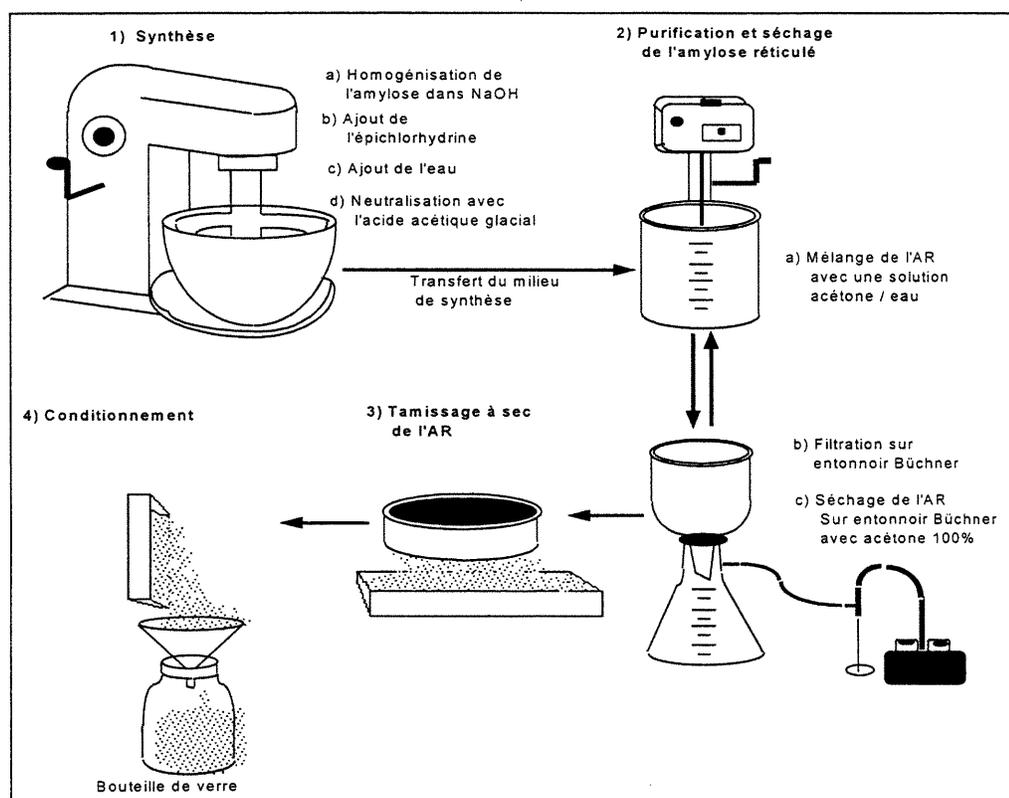


Figure 9.1.: Représentation schématique du procédé de fabrication de l'amylose réticulé (1992).

Influence de l' α -amylase sur les performances des comprimés d'amylose réticulé

Il est bien connu que l'amidon peut être hydrolysé par les enzymes amylolytiques. En général, la gélatinisation de l'amidon rend l'amylose plus disponible et augmente sa susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique. D'un autre côté, la réticulation modifie la structure de l'amylose et diminue la reconnaissance et l'affinité de l' α -amylase envers ce substrat modifié. Il n'en demeure pas moins que, pour des taux de réticulation faibles, l'amylose réticulé (AR) est reconnu par l' α -amylase et peut être presque totalement dégradé. En tenant compte de cette propriété, une amélioration de la technologie originale a été apportée (chapitre 5.0), permettant ainsi l'utilisation du Contramid[®] dans la formulation de comprimés à libération contrôlée de principes actifs moins solubles ou dont la solubilité est diminuée dans un milieu légèrement alcalin (caractéristique du petit et du gros intestin). Cette amélioration repose, essentiellement, sur la possibilité de moduler la libération d'un principe actif en ajoutant une quantité déterminée d' α -amylase dans le mélange pulvérulent de Contramid[®] et de principe actif, avant d'effectuer la compression.

Des tests de dissolution effectués à partir de comprimés de Contramid[®] exempts d'enzyme et contenant un principe actif (acétanilide, théophylline ou acétaminophène) ont été réalisés. Les temps de libération totaux obtenus ont varié de 24 à 37 heures en fonction du type de médicament étudié. Une augmentation du contenu en α -amylase dans les comprimés provoque une augmentation marquée de la vitesse de libération de tous les principes actifs étudiés (Figure 4, chapitre 5.1) et une augmentation de la linéarité des profils de libération (Figures 1-3, chapitre 5.2). La relation entre la vitesse de libération des principes actifs et la quantité d' α -amylase introduite dans les comprimés n'est pas linéaire et il semble que pour une quantité de 3 à 5 mg d'enzyme (15-25 UE), les temps de libération obtenus pour les différents principes actifs deviennent pratiquement identiques (environ 5 heures). Ceci démontre que pour des concentrations élevées d' α -amylase, l'hydrolyse enzymatique devient le processus prédominant du contrôle de la libération du principe actif. De plus, on observe aussi le développement d'une allure sigmoïde des profils de

libération qui témoigne vraisemblablement de l'influence de deux mécanismes qui régissent le contrôle de libération: i) un gonflement du comprimé accompagné par une diffusion du principe actif et ii) une hydrolyse enzymatique provoquant une érosion du comprimé et une accélération du taux de libération.

L'amélioration de la technologie par l'introduction du contrôle enzymatique de la libération est appréciable. Toutefois, puisque l'amylose réticulé demeure susceptible à l'hydrolyse enzymatique, on peut aussi s'interroger sur la résistance des comprimés de Contramid® lorsque ceux-ci sont placés dans un milieu contenant de l' α -amylase. La Figure 5, présentée au chapitre 5.2, illustre bien cette situation. Il faut plus de 6000 unités enzymatiques dans le milieu de dissolution, pendant toute la période de dissolution, pour réduire le temps de libération de l'acétanilide de moitié. Ce phénomène est assez curieux, car il faut en général moins d'une heure pour hydrolyser 400 mg de poudre de Contramid® préalablement hydratée et maintenue dans les mêmes conditions (T° , pH et concentration enzymatique). La résistance relativement élevée des comprimés à base de Contramid® à l'hydrolyse enzymatique, par comparaison à l'amidon gélatinisé et réticulé [Kost and Shefer, 1990], peut être expliquée comme suit: suivant l'hydratation de la surface des comprimés de Contramid®, un réarrangement des chaînes d'amylose s'opère et celles-ci rétrogradent et forment un gel dense, élastique et relativement résistant à l'attaque enzymatique. Ce type de résistance de l'amidon est bien connu (type III - Englyst et al., 1992) et est attribuable à la propriété de l'amylose de former des doubles hélices (forme cristalline de type B), ce qui le rend beaucoup moins accessible pour l' α -amylase. D'ailleurs, la susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique des gels à base d'amidon diminue avec l'augmentation de la teneur en amylose [Biliaderis, 1991 (a)] et pour des comprimés formulés à partir d'amylose à chaînes courtes (permettant un très haut degré de réassociation), l'hydrolyse enzymatique devient pratiquement inexistante [Te Wierik et al., 1997].

Il est généralement admis que l'augmentation du taux de réticulation de l'amylose diminue la susceptibilité des poudres à l'hydrolyse enzymatique. Toutefois, lorsqu'il s'agit de comprimés de Contramid®, l'augmentation du taux de réticulation de l'amylose cause une augmentation du volume de gonflement des comprimés

placés dans l'eau permettant ainsi une meilleure accessibilité de l' α -amylase aux comprimés hydratés et donc une plus grande susceptibilité à l'hydrolyse enzymatique.

Une hypothèse de mécanisme s'effectuant en deux étapes subséquentes a été proposée pour expliquer la libération de médicaments à partir de comprimés de Contramid® contenant de l' α -amylase: a) hydratation et gonflement des comprimés accompagnés par une solvataion et activation de l' α -amylase contenue dans les comprimés suivis par b) hydrolyse enzymatique interne créant des pores microscopiques et des fissures dans la barrière gélifiée menant à une diffusion plus rapide du médicament et à une accélération de la pénétration d'eau dans le comprimé.

Étude des propriétés liantes et désintégrantés de l'amylose réticulé

L'étude des propriétés liantes de l'amylose réticulé (AR) est décrite dans le chapitre 6.0. Pour effectuer cette étude, une série de produits ayant un taux de réticulation de 0, 6, 11, 15 et 30, ont été synthétisés et tamisés de manière à obtenir deux fractions granulométriques: de 50 à 250 μm et < 50 μm . Les effets de la concentration et du degré de réticulation de l'amylose réticulé et de la taille granulométrique sur les propriétés mécaniques et le temps de désagrégation des comprimés ont été étudiés. Comme en témoignent les Figures 2 à 5 du chapitre 6.2, la dureté des comprimés contenant de l'amylose réticulé est supérieure aux comprimés témoins (Lactose 100 mesh α -monohydraté et 0.2 % de stéarate de magnésium) ne contenant aucun agent liant. Bien que l'addition de stéarate de magnésium conduit à une diminution de la dureté des comprimés de lactose [Lerk et al., 1977], la présence de 0.2 % de stéarate de magnésium dans les comprimés contenant de l'amylose réticulé n'a pas empêché d'obtenir des duretés très élevées. L'augmentation de la force de compression cause une augmentation de la dureté (Figures 2 à 5, chapitre 6.2) et une diminution de la friabilité (Figures 9 et 10, chapitre 6.2) de tous les comprimés contenant l'amylose réticulé avec l'atteinte d'un plateau entre 6 et 8 tonnes/cm², contrairement aux comprimés témoins qui deviennent très fragiles lorsqu'une pression supérieure à 6 tonnes/cm² est appliquée. La diminution radicale de la dureté observée dans le cas des comprimés de lactose

peut être due à la rupture des particules de lactose en plus petites particules sous l'effet de la haute pression exercée lors de la compression [Rime et Doelker, 1993]. L'augmentation du taux de réticulation de l'amylose génère une augmentation de la dureté des comprimés jusqu'à un maximum de dureté obtenu avec l'AR-15 (Figure 6, chapitre 6.2). En général, une augmentation de la concentration d'amylose réticulé dans les comprimés conduit aussi à une augmentation nette de la dureté, à l'exception de l'AR-0 et l'AR-30 où l'augmentation de la dureté n'est pas aussi significative. L'utilisation d'une fraction granulométrique inférieure à 50 μm d'AR-15 (Figures 7 et 8, chapitre 6.2) permet d'augmenter la dureté des comprimés de façon très significative. Ainsi, une quantité de 5 % d'AR-15 est suffisante pour obtenir une dureté de 14.5 kg (6.0 tonnes / cm^2), ce qui laisse place à l'incorporation d'une charge en principe actif très élevée (Tableau II, chapitre 6.2).

Une étude comparative des propriétés liantes de l'amylose réticulé (AR-8), de l'amylopectine réticulée à 8 % et du lactose 100 mesh est présentée dans le Tableau 9.1 (tiré du chapitre 6.1).

Tableau 9.1.: Comparaison de la dureté des comprimés contenant soit 20 % d'amylose réticulé (AR-8), 20 % d'amylopectine réticulée-8 ou seulement du Lactose 100 mesh. Tous les comprimés ont été compressés à 8 tonnes/ cm^2 .

AR-8	Amylopectine réticulée-8	Lactose 100 mesh
14.5	7.5	2.0
13.5	8.0	3.0
15.0	8.5	3.0
13.0	8.5	2.0
13.5	8.5	3.5
moyenne = 13.9	moyenne = 8.2	moyenne = 2.7

Les résultats démontrent clairement que les duretés des comprimés contenant 20 % d'amylose réticulé (compressés à 8 tonnes/ cm^2) sont presque du double de ceux fabriqués à partir de l'amylopectine réticulée. Ce résultat semble démontrer qu'une

augmentation de la teneur en amylose conduit directement à une augmentation de la dureté des comprimés. Il peut témoigner aussi de l'importance du caractère linéaire de l'amylose lui permettant probablement d'effectuer un plus grand nombre de liaisons physiques suite à la compression. Ce résultat est différent de ceux rapportés par Schwartz et Zelinskie qui suggèrent que le pouvoir liant est apporté de façon prédominante par l'amylopectine, tandis que l'amylose possède le pouvoir désintégrant. Toutefois, leur produit n'était pas réticulé, mais seulement gélatinisé [Schwartz and Zelinskie, 1978].

Une étude de la vitesse de désagrégation des comprimés contenant 20 % d'AR-15, dans les conditions décrites au chapitre 6.2, a révélé que l'AR-15 possède des propriétés désintégrantantes semblables à l'Avicel PH-102[®]. L'augmentation de la force de compression génère une augmentation des temps de désagrégation des comprimés et ce, de façon plus marquée pour l'Avicel PH-102[®] (Tableau IV, chapitre 6.2). Le temps de désagrégation est presque doublé si la fraction inférieure à 50 µm est utilisée pour fabriquer les comprimés. Contrairement à l'Avicel PH 102[®], il est à noter que l'augmentation de la concentration de l'AR-15, au delà de 35 %, pourrait toutefois donner naissance à la gélification des comprimés et, ainsi, augmenter de façon importante les temps de désagrégation.

Une étude comparative des vitesses d'absorption d'eau des comprimés d'amylose réticulé sans principe actif en fonction du taux de réticulation a été réalisée dans les conditions décrites dans le chapitre 6.2. La vitesse d'absorption d'eau par les comprimés augmente lorsque le taux de réticulation de l'amylose est augmenté (Figure 11, chapitre 6.2). Ce résultat tend à démontrer que les propriétés de désagrégation de l'amylose réticulé (taux de réticulation supérieur à 15 %) sont reliées à une pénétration rapide de l'eau dans les comprimés qui cause un gonflement rapide des particules d'amylose réticulé, aboutissant à la destruction des comprimés. Les études d'hydratation par l'analyse d'image ont confirmé cette dépendance du degré de réticulation [Moussa and Cartilier, 1996].

En conclusion, l'amylose réticulé possède des propriétés liantes comparables ou supérieures à l'Avicel PH-102[®]. Pour des taux de réticulation faibles à modérés, l'amylose réticulé possède aussi des propriétés pour la libération contrôlée

(Contramid[®]) alors que pour des taux de réticulation élevés, il peut aussi devenir un agent liant-désintégrant (Liamid[®]).

Caractérisation de l'amylose réticulé par analyse d'image

Le chapitre 7.0 constitue un résumé d'études de caractérisation de l'amylose réticulé par analyse d'image et par RMN du solide ¹³C CP/MAS. On y présente aussi quelques résultats d'études cliniques effectuées avec un générique du Voltaren SR[®] (100 mg de diclofénac sodique) et un générique de l'Efidac[®] (pompe osmotique OROS contenant 240 mg de pseudoéphédrine -HCl), tous deux à base de Contramid[®].

Une étude par analyse d'image a permis, entre autres, de démontrer qu'un gel se forme à la surface des comprimés à base d'amylose réticulé en moins de 10 minutes suivant l'immersion des comprimés dans l'eau (Figures 1 à 3, chapitre 7.0). Alors que l'eau continue de diffuser rapidement vers le centre du comprimé (le centre est atteint en plus ou moins 30 minutes), la vitesse de progression de la couche gélifiée vers le centre diminue rapidement. Au fur et à mesure que l'eau pénètre dans le comprimé, le gradient d'eau (fort élevé au début de l'immersion) diminue progressivement dans le noyau et celui-ci prend de l'expansion dans les sens axial et radial. La formation du réseau de gel de la surface vers le centre du comprimé s'effectue progressivement pendant plusieurs heures jusqu'à ce qu'un équilibre de gonflement soit atteint (environ 72 heures). Ces résultats démontrent que la pénétration de l'eau dans les comprimés de Contramid[®] diffère de celle rapportée pour les systèmes de libération contrôlée par le gonflement où le front de solvant progresse de façon constante vers le centre et de celle rapportée pour les matrices hydrophiles dont le noyau prend de l'expansion dans le sens axial et se contracte dans le sens radial.

Quel que soit le taux de réticulation, les spectres RMN des comprimés d'amylose réticulé s'apparentent au spectre Va de l'amidon décrit dans la littérature (Figure 8, chapitre 7.0). Suite à l'immersion dans l'eau des comprimés à base d'amylose ayant un faible taux de réticulation, on assiste à la naissance progressive d'un spectre décrivant la forme cristalline de type B de l'amylose caractérisée par la

formation de doubles hélices. Cette cristallisation de l'amylose n'est pas observée pour l'amylose possédant un taux de réticulation élevé. La perte de l'habileté de former des doubles hélices et l'augmentation du nombre de groupements hydroxyle libres résultant d'une forte réticulation, peuvent nuire à la formation d'un gel consistant et vraisemblablement expliquer l'absorption rapide de l'eau dans le comprimé et la diffusion rapide du médicament vers le milieu de dissolution.

Les résultats des essais cliniques avec les différentes molécules actives ont démontré une grande versatilité de l'amylose réticulé, un faible degré de variabilité interindividuelle et une absence d'effet de la nourriture sur les profils plasmatiques (Figure 12, chapitre 7.0). La faible sensibilité des profils de libération aux variations de force de compression ainsi que la simplicité de fabrication (compression directe) rendent cette technologie très intéressante pour la préparation de forme à libération contrôlée de médicament pouvant être administrée par voie orale.

Élucidation du mécanisme de libération à partir des comprimés formulés à base de Contramid®

Comme il a été mentionné aux chapitres précédents, il existe essentiellement trois formes de l'amylose (formes A, B et V) qui peuvent être classées selon leur type d'arrangement cristallin. Les deux premières formes de l'amylose sont normalement obtenues suite à la rétrogradation d'une solution métastable d'amylose (elles sont formées de structures complexes constituées de chaînes d'amylose arrangées en hélice double) alors que la forme V est généralement le résultat d'une complexation de l'amylose par les acides gras, les alcools ou l'iode. Les différentes formes de l'amidon peuvent être identifiées par diffraction de rayons X et par RMN du solide (^{13}C CP/MAS).

Le chapitre 8.0 porte sur la caractérisation de l'amylose réticulé pulvérulent et sous forme de comprimé non hydraté par les techniques de diffraction de rayons X, par FT-IR et suivant la cinétique d'évaporation d'eau. Les clichés de diffraction de rayons X obtenus pour l'amidon à haute teneur en amylose natif sont caractéristiques de la forme B de l'amylose. La gélatinisation, la réticulation et le traitement de l'amidon à haute teneur en amylose par l'acétone modifient profondément

l'organisation granulaire de l'amidon natif, comme en témoignent les profils de rayons X présentés à la Figure 2 du chapitre 8.0. On peut observer la disparition du pic prédominant de 5.16 Å, possiblement attribuable à l'organisation de l'amylose sous forme de doubles hélices de type B, et l'apparition d'un pic à 6.94 Å pour un degré de réticulation modéré (AR-6), pouvant s'apparenter à la forme V_a de l'amylose, mais présentant beaucoup moins de cristallinité. Le déplacement du pic de 6.94 Å vers des valeurs supérieures s'accroît avec l'augmentation du degré de réticulation (AR-11) suggérant que l'hélice simple de l'amylose subit une déformation (acquiert une structure plus large), tant et si bien que la structure devient complètement déformée pour des taux de réticulation très élevés (AR-20 et plus). Ces résultats viennent appuyer l'hypothèse voulant que pour de forts taux de réticulation, la mobilité et la liberté des chaînes d'amylose soient compromises par le greffage aléatoire d'autres chaînes d'amylose et de molécules d'amylopectine et, par conséquent, que la cristallisation par annélation de l'amylose sous forme de doubles hélices (rétrogradation) après son immersion dans l'eau soit inhibée.

Les résultats obtenus en FT-IR sont en accord avec les résultats de diffraction de rayons X démontrant que, pour les faibles degrés de réticulation, l'association intra- et inter-chaînes d'amylose est favorisée. Pour des taux de réticulation élevés, le greffage aléatoire (par l'intermédiaire de ponts de réticulation) des chaînes d'amylose avec d'autres chaînes d'amylose et molécules d'amylopectine mène à la création de sections de chaînes d'amylose rigides inhibant toute possibilité d'annélation et causant ainsi une augmentation du nombre de groupements hydroxyle libres et disponibles pour la solvatation.

Les cinétiques d'évaporation d'eau, à partir des poudres d'amylose réticulé en fonction du taux de réticulation, indiquent que les produits ayant un taux de réticulation modéré (6 - 11) absorbent moins d'eau lors de leur exposition à la vapeur d'eau saturante à 50 °C (Figure 5a, chapitre 8.0). Ils perdent aussi l'eau absorbée plus rapidement et facilement lors du séchage à 50 °C que les autres produits (Figure 5b et 5c, chapitre 8.0). Cette plage de réticulation coïncide aussi avec celle pour laquelle les meilleurs temps de libération ont été obtenus. Il est difficile de fournir

une explication précise de ce phénomène, mais il semble que pour cette plage de réticulation (6 - 11), les associations hydrogène inter- et intra-chaînes d'amylose soit maximales dans ces poudres laissant ainsi moins de groupements hydroxyle libres disponibles pour l'hydratation.

La somme des résultats et observations obtenus suite à cette étude, a permis de proposer un modèle hypothétique représentant l'induction de la déformation des hélices d'amylose sous l'effet de la réticulation (Schéma 1, chapitre 8.0).

Caractérisation du Contramid[®] par RMN du solide (¹³C CP/MAS)

La technique de diffraction de rayons X rend compte de l'ordre structural à grande échelle. D'autre part, la technique du RMN du solide permet d'étudier l'ordre structural à une plus petite échelle (échelle atomique). Ainsi, des travaux de caractérisation par la RMN en phase solide (¹³C CP/MAS) de la structure de l'amylose réticulé, déshydraté par traitement à l'acétone, ont été récemment publiés [Marchessault et al., 1998]. Les spectres RMN des poudres et comprimés de Contramid[®] non hydratés démontrent clairement que la structure de l'amylose réticulé, obtenue suite au traitement par l'acétone, est amorphe et caractérisée par une forme V_a; elle s'apparente au spectre d'amylose complexé par les alcools que l'on retrouve dans la littérature. Toutefois, l'hydratation d'un comprimé ou de la poudre d'amylose faiblement réticulé permet d'observer une transition nette de la partie amorphe de l'amylose vers une structure cristalline de type B (Figure 9.2). Dans le cas du comprimé, cette transition est accompagnée par la formation d'un réseau de gel très dense qui ne se solubilise pas. La formation de la structure de type B des comprimés de Contramid[®] se prolonge sur plus de 40 heures. La formation de la barrière gélifiée s'effectue aussi de façon lente et progressive de la surface vers le centre du comprimé [Moussa and Cartilier, 1996]. La densité, la fermeté et l'élasticité du réseau formé régissent, entre autres, la pénétration subséquente de l'eau vers l'intérieur du comprimé et la diffusion d'un éventuel principe actif vers le milieu de dissolution. Il ressort également que ce n'est pas la partie complexée, mais bien la partie amorphe de l'amylose qui se transforme sous une forme B lors de l'hydratation

des comprimés de Contramid[®] [Marchessault et al., 1998].

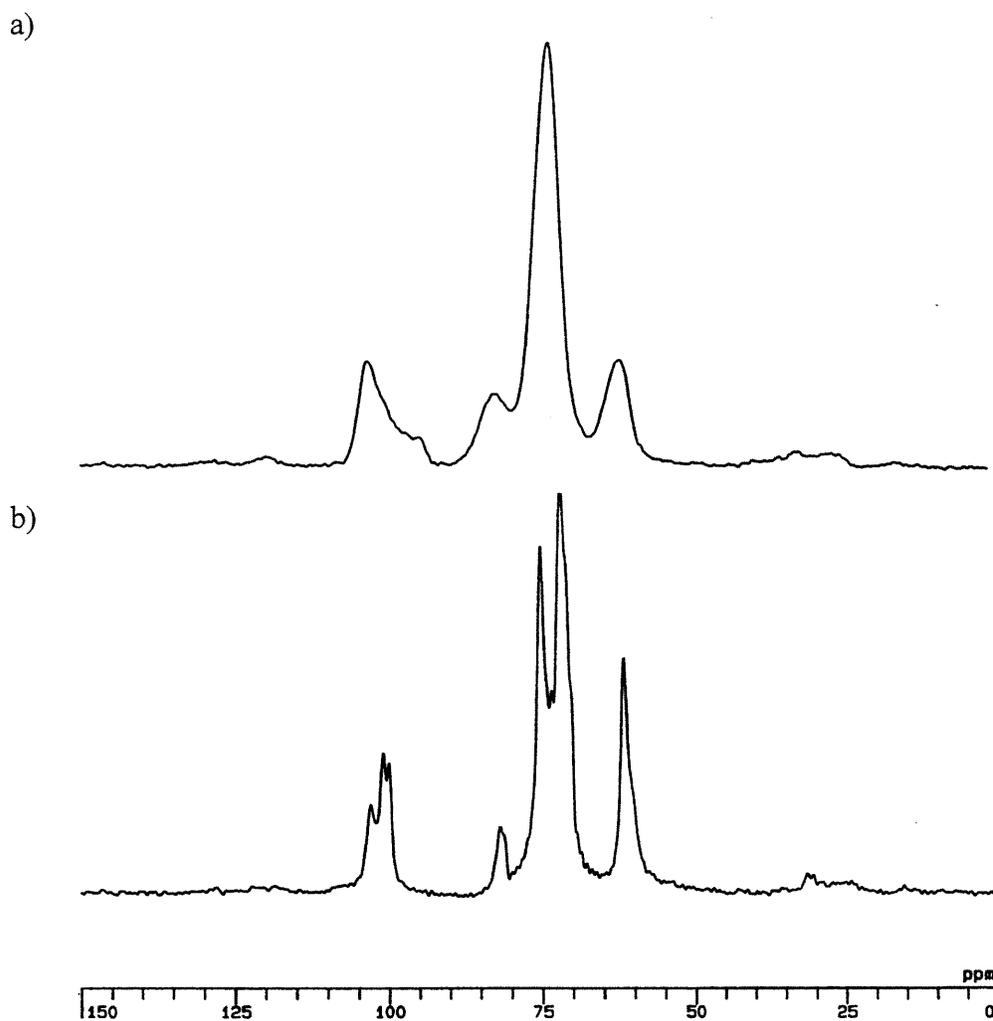


Figure 9.2: Spectres RMN ¹³C CP/MAS des comprimés sans principe actif à base de Contramid (a) sec et (b) à l'état hydraté.

D'ailleurs, une étude de l'effet de certains agents complexants (PEG 200 et 8000, éthanol, Tween 20 et 80, Myvaplex[®] et glycérol) sur les propriétés de libération de l'amylose réticulé a été effectuée. L'agent complexant a été incorporé à la suspension d'amylose réticulé soit avant d'effectuer un chauffage à 121 °C à l'autoclave ou à 80 °C lors du refroidissement de la suspension métastable

d'amylose. Les produits complexés ont ensuite été séchés par lyophilisation. Des comprimés de 500 mg (épaisseur de 2.7 mm ; diamètre de 13.0 mm) ont été obtenus par compression directe à 2.4 T/cm² (presse hydraulique Carver™) des mélanges pulvérulents composés de 20 % (p/p) d'acétaminophène et 80 % (p/p) d'amylose réticulé et complexé. La libération d'acétaminophène a été effectuée dans 1 L de tampon NaHPO₄/Na₂HPO₄ (50 mM, pH = 7, 37 °C) dans un appareil de dissolution Distek™ (méthode USP XXIII « 711 », appareil no. 2). Les absorbances ont été enregistrées périodiquement à l'aide d'un système en boucle, composé par un spectrophotomètre Hewlett Packard modèle 8452A (Diode Array) et d'une pompe péristaltique, tous deux contrôlés par un logiciel de dissolution. Les propriétés de libération ont été évaluées (Tableau 9.2) et mises en rapport avec les spectres obtenus en RMN du solide (Figure 9.3).

Tableau 9.2.: Influence de l'incorporation d'un agent complexant sur les propriétés de libération.

a) L'ajout du complexant a eu lieu avant d'effectuer un chauffage (121 °C pendant 20 minutes) de la suspension d'amylose réticulé.

	Agents complexants				
	Contrôle	1 % glycérol	5 % glycérol	10 % glycérol	5 % Myvaplex®
Temps de libération (h) pour 90 % du contenu en principe actif	16.5	11.8	6.0	2.9	0.3

b) Ajout du complexant effectué à 80 °C lors du refroidissement de la suspension d'amylose réticulé.

	Agents complexants							
	Contrôle	5 % glycérol	5 % Tween 80	5 % Tween 20	5 % PEG 200	5 % PEG 8000	5 % éthanol	5 % Myvaplex®
Temps de libération (h) pour 90 % du contenu en principe actif	18.0	0.5	1.0	0.6	1.7	0.3	1.3	0.3

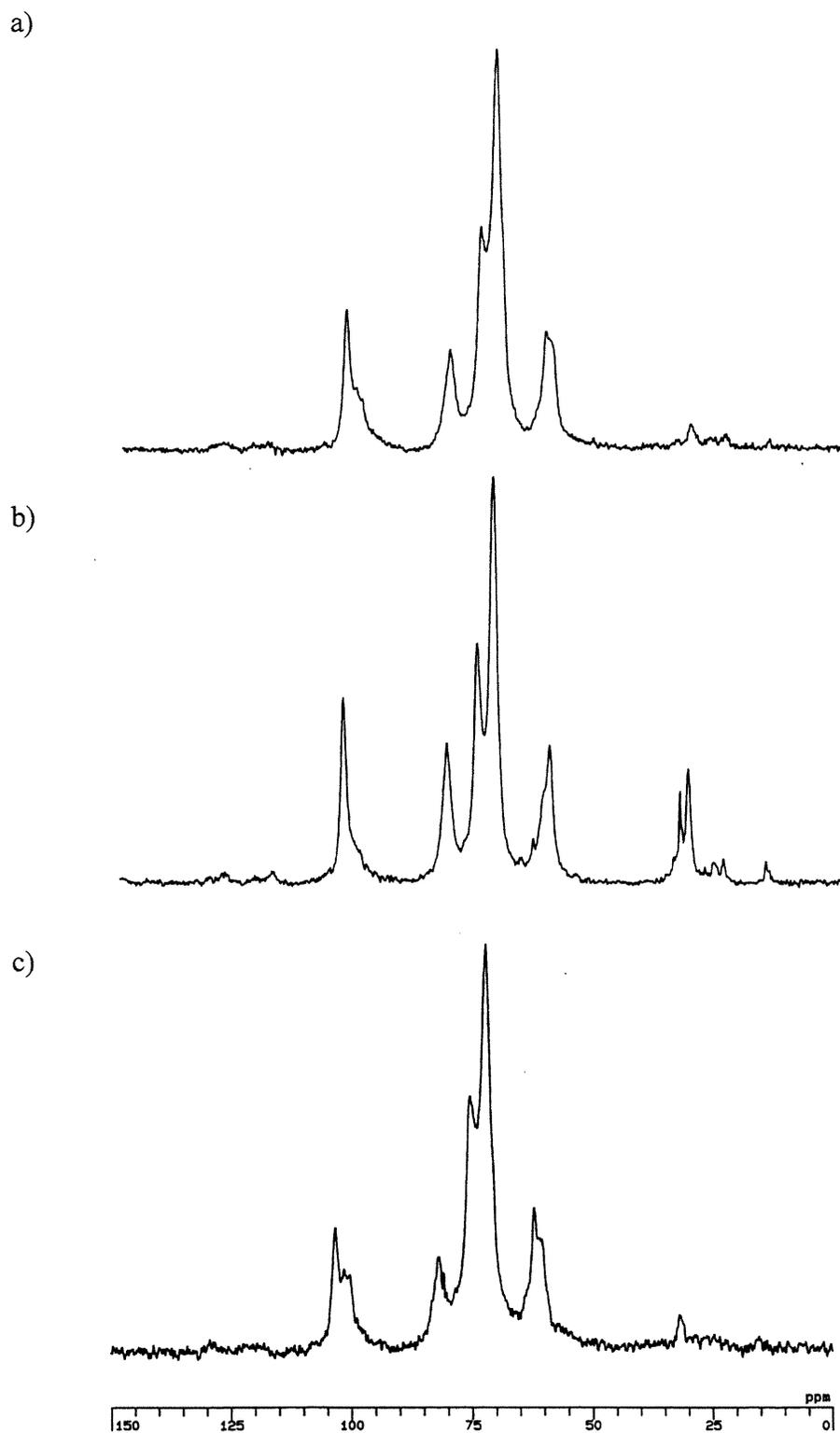


Figure 9.3: Comparaison des spectres RMN ^{13}C CP/MAS obtenus à partir des poudres d'amylose réticulé complexé avec 5 % de PEG 8000 (a), 5 % de Myvaplex[®] (b) et 5 % d'éthanol (c).

Il s'est avéré que l'incorporation d'un agent complexant, dans des conditions permettant la complexation, diminue radicalement les propriétés de libération et la cohésion des comprimés hydratés. Basé sur l'intensité du pic enregistré à 103 ppm, qui caractérise la forme complexée de l'amylose, une classification des différents agents étudiés, selon un ordre décroissant du pouvoir complexant est proposé: Myvaplex[®] (glycéryl monostéarate) > Tween 20 > Tween 80 > PEG 8000 > PEG 200 > éthanol > glycérol.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Sievert [Sievert and Wursch, 1993] qui a démontré par DSC que la formation de doubles hélices d'amylose, qui s'effectue normalement lors du refroidissement d'une solution métastable d'amylose, est inhibée en présence de L- α -lysophosphatidylcholine (agent complexant). De plus, les auteurs rapportent que l'ampleur de l'inhibition d'association des chaînes d'amylose est proportionnelle à la concentration d'agent complexant et qu'il faut jusqu'à 10 % d'agent complexant pour inhiber complètement la formation de doubles hélices d'amylose. Ces résultats suggèrent fortement que la complexation de l'amylose réticulé avec des agents complexants de nature lipidique doit être évitée pour permettre aux comprimés de Contramid[®] de gélifier (rétrogradé sous une forme B) lors de l'hydratation et de posséder les propriétés de libération recherchées. Les lipides naturels contenus dans les sphérosomes peuvent contaminer légèrement l'amidon à haute teneur en amylose lors de son extraction. Ainsi, il est possible qu'une certaine fraction de l'amylose puisse être complexée suite à la gélatinisation de l'amidon en présence de lipides (ce qui pourrait contribuer à l'obtention du spectre V_a observé en RMN - Figure 9.2). Cependant, la concentration de lipides présents serait insuffisante pour nuire de façon importante aux propriétés de libération.

Bien que ce résultat semble contradictoire avec ce que certains auteurs rapportent [Te Wierik et al., 1997, 1996, 1993 (a); Arends-Scholte et al., 1995], la complexation de l'amylose réticulé par l'éthanol doit aussi être évitée pour obtenir les propriétés de libération recherchées. Il est bien connu que pour obtenir la formation d'un complexe de l'amylose avec un alcool, certaines conditions doivent être rencontrées. Il faut, entre autres, que l'alcool soit ajouté dans une solution chaude et métastable d'amylose [Bauer and Pacsu, 1953, cité Young, 1984; van Soest et al.,

1996]. L'influence sur les propriétés de libération de la température à laquelle l'éthanol est ajouté à une solution métastable d'amylose réticulé a donc été étudiée. Les résultats démontrent clairement que les propriétés de libération sont grandement influencées par la température à laquelle l'éthanol est ajouté (Figure 9.4). Ces résultats démontrent qu'il faut refroidir la solution métastable d'amylose réticulé au moins jusqu'à 50 °C avant d'ajouter l'éthanol pour éviter la complexation et obtenir ainsi les propriétés de libération recherchées.

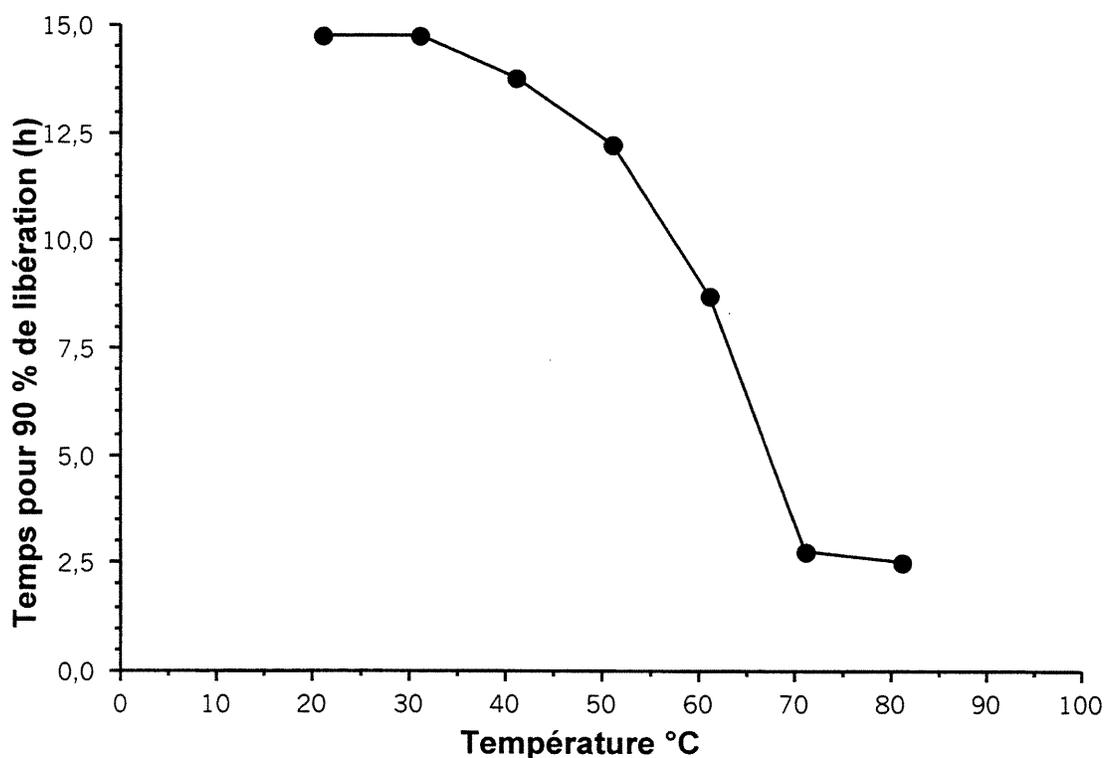


Figure 9.4: Relation entre la température de la solution d'amylose réticulé à laquelle l'éthanol est ajouté et les temps de dissolution correspondant à la libération de 90 % du contenu initial d'acétaminophène.

En effet, bien que la transition polymorphique des complexes cristallins V_h (amylose - éthanol) en structure de type B soit possible [Le Bail et al., 1995], il faut plus de 2 jours avant que la transition de V_h à B d'une poudre d'amylose soit

complétée lors de son immersion dans l'eau. La lenteur de la transition de V_h à B de l'amylose sous forme de poudre exclut d'emblée la possibilité que la formation du réseau gélifié dans un comprimé passe par ce type de mécanisme et appuie la théorie que la complexation de l'amylose réticulé par l'éthanol ne soit pas souhaitable pour obtenir les propriétés de libération recherchées.

Ces résultats et observations permettent aussi de conclure que les propriétés de libération sont étroitement liées à la capacité de l'amylose réticulé de gélifier, soit d'effectuer une transition de la partie amorphe et non complexée de l'amylose à une forme cristalline de type B (formation de doubles hélices). Cette transition est possible lorsque le comprimé de Contramid[®] est remis en présence d'une quantité suffisante d'eau (l'eau joue le rôle de plastifiant) et à une température supérieure au T_g .

Comme il est possible de figer l'amylose sous une structure amorphe, en effectuant très rapidement le refroidissement d'une solution métastable d'amylose sous son T_g ou en la déshydratant en utilisant un procédé très rapide [Biliaderis, 1991 (a); Morris, 1990], il a été possible de développer un procédé de fabrication totalement aqueux dans lequel la méthode de séchage permet d'obtenir de l'amylose réticulé sous une forme de poudre amorphe et compressible [Dumoulin et al., 1998].

Effet du taux de réticulation sur la rétrogradation de l'amylose réticulé

Il est clair que les propriétés de libération sont associées à une augmentation du degré de cristallinité du réseau formé suite à l'hydratation des comprimés. Puisque cette cristallinité est maximale pour des taux de réticulation faibles (inférieurs à 1 %), comment peut-on expliquer que le temps de libération d'un médicament soit plus court à partir d'une matrice de Contramid[®] ayant un très faible taux de réticulation?

Les matrices à base de Contramid[®] ayant un très faible taux de réticulation (inférieur à 1%) permettent aussi de freiner la libération d'un médicament. En fait, c'est à partir de ces matrices qu'on obtient la plus faible vitesse de libération de médicament. Toutefois, après quelques heures de libération, les comprimés se

fissent sur le sens longitudinal et finissent par se séparer en deux ou plusieurs morceaux, ce qui se traduit par une libération quasi - instantanée de la quantité résiduelle de principe actif et par une diminution drastique des temps de libération. On peut tenter d'expliquer ce comportement de la façon suivante: un gel est considéré comme un système biphasique constitué par un réseau macromoléculaire tridimensionnel solide retenant la phase liquide entre ses mailles. Il provient d'un phénomène de coopérativité nécessitant une régularité stéréochimique du polymère ou des segments assez étendus du polymère pour permettre le rapprochement des chaînes. Or, par extrapolation de ce qui est observé pour les homopolymères [Colonna et Thibault, 1986], il est probable que les zones de jonction très étendues de l'amylose très faiblement réticulé (inférieur à 1 %) soient responsables de la formation de gels rigides et cassants.

Le Contramid[®] est fabriqué à partir d'un amidon à haute teneur en amylose, mais qui contient tout de même près de 30 % d'amylopectine. Les grandes différences de poids moléculaire et de structure entre l'amylopectine (structure arborescente) et l'amylose (principalement linéaire) rendent ces deux types de molécules pratiquement non miscibles [German et al., 1992]. Certains auteurs précisent que la formation d'un gel résultant de la non miscibilité des deux polysaccharides (suite à la gélatinisation de l'amidon) mène à l'établissement d'un gel biphasique. Il semble aussi que l'état phasique des gels d'amidon formés à partir d'un mélange d'amylose et d'amylopectine dépend du contenu en eau [Yuryev et al., 1995]. Pour des teneurs en eau supérieures à 70 % p/p, les gels obtenus sont biphasiques (non miscibilité entre l'amylose et l'amylopectine) alors que pour des teneurs en eau comprises entre 15 et 40 %, les gels obtenus sont monophasiques. Or, dans notre système, l'ajout de l'épichlorhydrine s'effectue dans une suspension d'amidon à haute teneur en amylose préalablement gélatinisé et à une concentration d'amidon d'environ 20 % p/p. La réticulation s'effectue le plus vraisemblablement d'une façon aléatoire pour ainsi former des liens covalents entre les chaînes amylose-amylose, amylopectine-amylopectine et, bien entendu, amylose-amylopectine. Pour les raisons mentionnées précédemment, le pontage chimique d'une molécule d'amylose à une molécule d'amylopectine devrait s'effectuer de façon préférentielle

en périphérie et à la surface d'une molécule d'amylopectine. Le pontage de molécules d'amylopectine au sein des chaînes d'amylose peut introduire une irrégularité structurale au niveau de l'homopolymère, générant ainsi un gel plus élastique, puisqu'une chaîne du polymère pourra posséder des zones de jonction communes avec plusieurs autres partenaires, ce qui assurera la cohésion du réseau. Ces irrégularités structurales génèrent aussi un certain caractère amorphe, favorisant une libération lente [Szabo et al., 1998]. Selon cette hypothèse, les propriétés de libération seraient maximales (temps de libération, gonflement, souplesse et élasticité des comprimés) à partir d'une matrice de Contramid[®], lorsque le taux de réticulation permet de former suffisamment de liens covalents amylose-amylopectine pour équilibrer les forces associées à la formation des doubles hélices d'amylose (liens physiques).

Avec l'augmentation du taux de réticulation, le nombre et la longueur des sections de chaînes pouvant permettre la jonction par liens physiques des chaînes amylose-amylose, sous forme de doubles hélices, doit diminuer progressivement. Marchessault et al. ont évalué la modification de la structure native de l'amylose suite à une réticulation (mesurée indirectement par la capacité de complexation de l'amylose à l'iode) et la capacité de former des doubles hélices suite à l'hydratation des comprimés de Contramid[®] par la RMN du solide ¹³C CP/MAS [Marchessault et al., 1998]. Les résultats des travaux ont révélé que l'augmentation du taux de réticulation conduit à une modification profonde de la structure native de l'amylose (Figure 9.5) et à une diminution de la capacité de l'amylose à former des doubles hélices (rétrogradation de l'amylose sous une forme B - Tableau 9.3). Les mêmes observations concernant les formes V et B et le degré de réticulation ont été obtenues par diffraction de rayons X des poudres d'amylose réticulé [Dumoulin et al., 1998; Szabo et al., 1998]. Ces résultats vont de concert avec l'augmentation de la vitesse de libération de médicament qui est observée avec l'augmentation du taux de réticulation [Mateescu et al., 1995; Dumoulin, 1991 (a); Lenaerts et al., 1991].

Tableau 9.3: Relation entre le taux des formes V* et B** obtenus par RMN du solide suite à l'hydratation de comprimés de Contramid® et la quantité d'épichlorhydrine introduite [tiré de Marchessault et al., 1998].

Réticulation (%)	% H2O	% V	% B
2.0	174	23	77
2.5	206	24	76
3.0	234	25	75
3.5	431	33	64
4.0	477	40	61

* calculé à partir de la surface de l'aire du pic à 103 ppm

** calculé à partir de la surface de l'aire du pic à 100-101 ppm

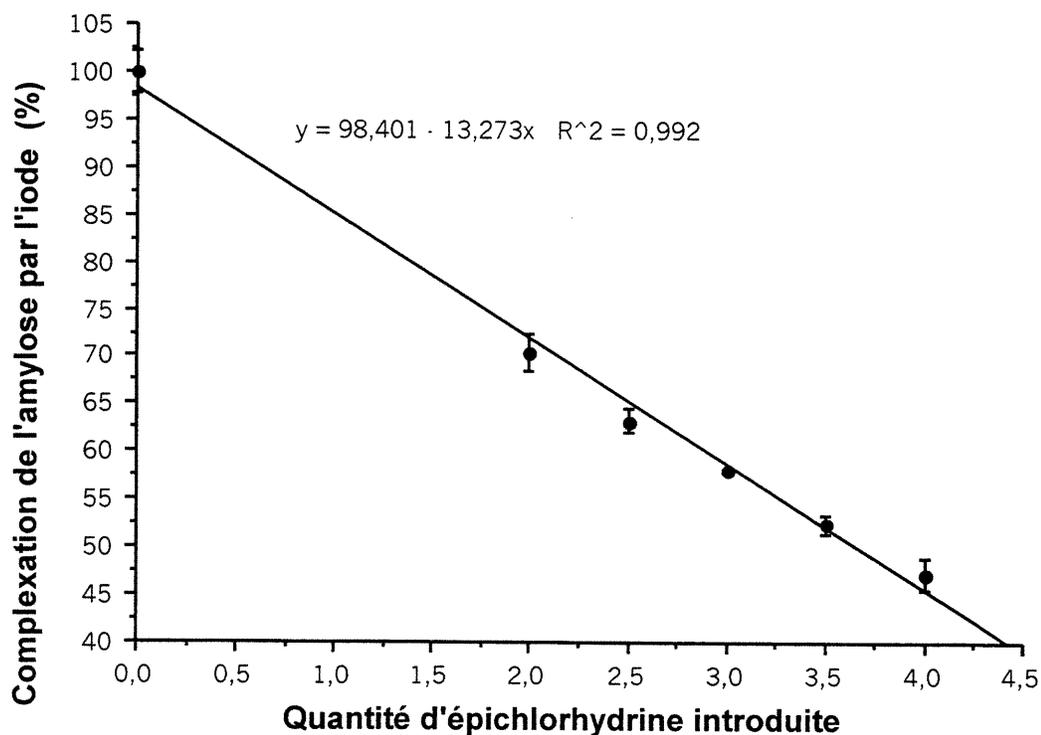
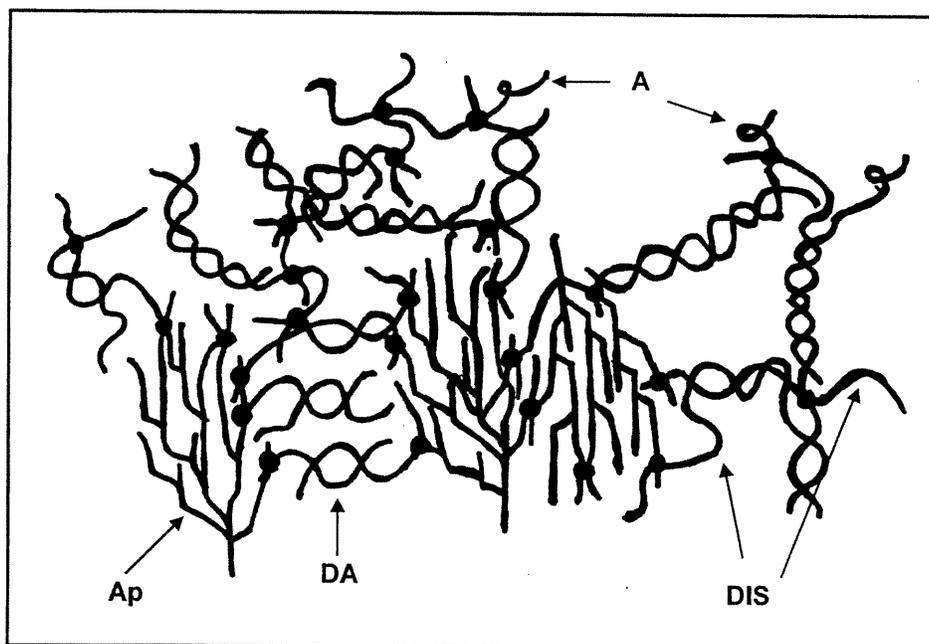


Figure 9.5: Effet de la quantité d'épichlorhydrine introduite pour effectuer le pontage de l'amidon à haute teneur en amylose sur le taux de complexation par l'iode. Les taux de complexation des produits réticulés ont été normalisés en considérant que le taux de complexation du Hylon VII gélatinisé et non réticulé est de 100 % [tiré de Marchessault et al., 1998].

Ainsi, à partir des modèles proposés aux chapitres précédents pour la gélification et la déformation des chaînes d'amylose suite à la réticulation, enrichis des résultats et observations récents, un modèle représentant le réseau gélifié d'un comprimé de Contramid[®] est proposé (Figure 9.6).



Légende: Ap = Molécule d'amylopectine
 A = Chaîne d'amylose en simple hélice
 DA = Double hélice d'amylose
 ● = Pont de réticulation
 DIS = Distorsion de la double hélice induite par la présence du pont de réticulation

Figure 9.6: Représentation schématique du réseau gélifié au niveau moléculaire suivant l'hydratation d'un comprimé d'amylose réticulé. La supergélification (association de plusieurs doubles hélices formant une cellule de type A ou B) n'est pas présentée pour ne pas surcharger cette figure.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 10.0.: CONCLUSION

La découverte des propriétés intéressantes de l'amylose réticulé a donné naissance à une toute nouvelle technologie permettant de contrôler la libération de médicament administré oralement. Ce qui rend cette technologie à la fois originale et intéressante, comparativement aux autres systèmes existants, c'est qu'on combine à la fois, dans un nouveau concept, plusieurs avantages et qualités retrouvés dans les autres technologies de libération contrôlée. Parmi ces avantages, on retrouve:

- Les coûts de production du Contramid® à l'échelle commerciale seront très compétitifs, attribuable au faible coût des matières premières et de la simplicité du procédé de fabrication.
- Une fabrication facile et économique des formes posologiques finales par compression directe du mélange sec des poudres de Contramid® et du principe actif.
- Insensibilité à une variation de la force de compression.
- Le pH du milieu de dissolution ne semble pas affecter le mécanisme de libération des comprimés à base de Contramid®.
- La compression directe se fait sans addition d'agent liant; l'amylose réticulé possède d'excellentes propriétés liantes, ce qui permet d'augmenter la teneur en principe actif dans le comprimé.
- Grande capacité de charge: un comprimé de Contramid® peut contenir jusqu'à 60 % de théophylline, tout en maintenant un contrôle sur la libération.
- Grande versatilité: la possibilité d'obtenir du Contramid® à un taux de réticulation adapté à chaque principe actif permet d'obtenir le profil et le temps de libération désirés.
- Les profils de libération de la majorité des principes actifs à partir du Contramid® se rapprochent davantage d'une libération constante et régulière en fonction du temps, que d'une libération fickienne.
- Possibilité de reproduire des profils de libération qui, jusqu'à maintenant, ne pouvaient être obtenus qu'avec des technologies de libération très complexes et dispendieuses faisant appel aux pompes osmotiques.
- La facilité d'utilisation permet un développement rapide et économique de nouvelles formulations.

- Possibilité de moduler la libération d'un principe actif peu soluble par un contrôle enzymatique à l'aide de l' α -amylase pulvérulente ajoutée durant la formulation des comprimés à base de Contramid[®].
- Peut permettre aux principes actifs, dont les brevets viennent à échéance, de bénéficier d'un prolongement de la protection en obtenant un profil de libération original à partir de la technologie du Contramid[®].
- À la fois biocompatible et biodégradable, suite à l'action de l' α -amylase pancréatique contenue dans le milieu de dissolution, sans que le profil de libération du principe actif soit grandement modifié.

La compréhension de cette technologie a constitué un défi intéressant puisque son mécanisme de libération est différent de celui des matrices dont la libération est contrôlée par le gonflement du polymère et de celui des matrices hydrophiles.

Des études de caractérisation par gonflement, par analyse d'image, par diffraction de rayons X, par FT-IR et par RMN démontrent clairement l'originalité du comportement de l'amylose réticulé. Ces études ont clairement démontré que la propriété d'excipient pour la libération contrôlée vient de l'habileté de l'amylose de former des gels compacts qui ne s'érodent pas. La gélification s'effectue suite à l'immersion des comprimés dans l'eau et à la transformation de la partie amorphe de l'amylose en une structure thermodynamiquement plus stable constituée d'hélices d'amylose annelées et arrangées dans une superstructure de type B. La réticulation modérée de l'amidon à haute teneur d'amylose implique aussi le greffage des molécules d'amylopectine au sein des longues sections de chaînes d'amylose, permettant ainsi l'obtention d'un gel plus souple et élastique, tout en demeurant relativement résistant aux enzymes amylolytiques. L'augmentation excessive du taux de réticulation conduit à la déformation des hélices d'amylose, ce qui a comme conséquence l'inhibition de la réassociation de l'amylose (la gélification), ce qui se traduit par l'augmentation des vitesses de libération des principes actifs. Les temps de libération maximaux sont donc obtenus pour les produits ayant un taux de réticulation modéré dont les forces de réassociation des chaînes d'amylose sont parfaitement équilibrées par la souplesse et l'élasticité du gel résultant de la réticulation impliquant les chaînes d'amylose et de l'amylopectine.

Le développement de la technologie a donné lieu au dépôt de trois brevets internationaux (excipient pour la libération contrôlée; modulation des profils de libération par contrôle enzymatique; agent liant - désintégrant), la naissance d'une compagnie inscrite à la bourse de Montréal et de Toronto (Labopharm Inc.), ainsi qu'à la création d'une centaine d'emplois. Le développement d'un procédé de fabrication aqueux de l'amylose réticulé par la compagnie Rougier Inc. et sa transposition d'échelle (pilote-industrielle) a permis de fabriquer le matériel nécessaire pour effectuer plusieurs études cliniques chez l'homme.

Les résultats des différentes études cliniques avec différentes molécules actives ont démontré une grande versatilité de l'amylose réticulé, un faible degré de variabilité inter-sujets et une absence d'effet de la nourriture sur les profils plasmatiques [Lenaerts et al., 1998]. La faible sensibilité des profils de libération aux variations de la force de compression, ainsi que la simplicité de fabrication (compression directe), rendent cette technologie très intéressante pour la préparation de formes à libération contrôlée de médicament pouvant être administrées par voie orale.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Chapitre 11.0.: BIBLIOGRAPHIE

- Aiache J. M. et Beyssac E., « Corrélations in vitro-in vivo: rêve ou réalité ? », *S.T.P. Pharma*, **6**, (1990), p. 678-685.
- Ansel H. C., Popovich N. G. and Short G., *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*, 5th edition, ed. by H. C. Ansel and N. G. Popovich, Lea and Febiger, Philadelphie, (1990), 459 p.
- Arends-Scholte A. W., Bergsma J., Eissens A. C., Gotlieb K. F., Lerk C. F., Swinkels J. J. M. and Te Wierik G. H. P., « Starch products as tableting excipient, method for preparing same, and method for making tablets ». *International patent application no. PCT/NL95/00321*, (1995).
- Asker A. F. and Becker C. H., « Some spray-dried formulations of sulfaethylthiadiazole for prolonged-release medication », *J. Pharm. Sci.*, **55**, (1966), p. 170-177.
- Baensch J., Gummy D., Sievert D. and Würsch P., « Food grade texture agent comprising particules of high amylose starch and process for its preparation ». *International patent no. WO 96/030357*, (1996).
- Banker G. S. and Anderson N. R., « Tablets » in *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, ed. by L. Lachman, Lea and Febiger, Philadelphie, (1986).
- Banks W. and Greenwood C. T., « The reaction of starch and its components with iodine » in *Starch and its Components*, ed. by W. Banks and C. T. Greenwood, Edinburgh University Press, Edinburgh, (1975).
- Banks W. and Greenwood C. T., « The fine structure of amylose: the action of pullulanase as evidence of branching », *Arch. Biochem. Biophys.*, **117**, (1966), p. 674-675.
- Bauer A. W. and Pacsu E., « Starch studies: IV, Concepts of structure », *Textile. Res. J.*, **23**, (1953), p. 870-859.
- Baur J. R., « Release characteristics of starch xanthide herbicide formulations », *J. Environ. Qual.*, **3**, (1980), p. 379-382.
- Bécharde S., « Conceptualisation, modélisation et développement d'implants polymériques poreux pour la libération prolongée de médicaments par diffusion », *Thèse de Doctorat*, Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Québec, Canada, (1987).
- Biliaderis C. G., « Structures and Phase Transitions of Starch in Food Systems », *Food Technology*, June (1992), p. 97-123.

- Biliaderis C. G., « The structure and interactions of starch with food constituents », *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **69**, (1991) (a), p. 60-78.
- Biliaderis C. G., « Non-equilibrium Phase Transitions of Aqueous Starch Systems », *Water Relationships in Food*, ed. by H. Levine and L. Slade, Plenum Press, New York, (1991) (b), p. 251-273.
- Biliaderis C. G., « Differential Scanning Calorimetry in Food Research-A Review* », *Food Chemistry*, **10**, (1983), p. 239-265.
- Biliaderis C. G., Maurice T. J. and Vose J. R., « Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry », *J. Food Sci.*, **45**, (1980), p. 1669-1674.
- Boursier B., « Applications alimentaires des amidons modifiés », Science technique économique agro-alimentaire, *IAA.*, **9**, (1994), p. 588-592.
- Bruck S. D., « Pharmacological basis of controlled drug delivery » in *Controlled Drug Delivery - Basic Concept*, chap. 1, ed. by S. D. Bruck, CRC press, Boca Raton, (1983).
- Bulpin P. V., Welsh E. J. and Morris E. R., « Physical characterization of amylose fatty acid complexes in starch granules and in solution », *Starch*, **34**, (1982), p. 335-339.
- Buri P. et Doelker E., « La mise à disposition de l'organisme des principes actifs à partir de formes pharmaceutiques destinées à l'administration par voie orale » dans *Traité de Biopharmacie et Pharmacocinétique*, chap. IV, 2^e édition, édité par J. M. Aiache., J. G. Besner, P. Buri, P. P. Leblanc, M. Lesne et al., Les presses de l'Université de Montréal, éditions Vigot, Paris, (1990).
- Buri P. et Doelker E., « Formulation des comprimés à libération prolongée. II. Matrices hydrophiles », *Pharm. Acta Helv.*, **55**, (1980), p. 189-197.
- Carli F. and Simioni L., « Permeability and penetrability of solid beds in dosage form desing and development », *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, **53**, (1977), p. 1-21.
- Cartilier L., Mateescu M. A., Dumoulin Y. and Lenaerts V., « Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in tablets ». *US patent no. 5,616,343*, (1997) (a).
- Cartilier L., Moussa I., Chebli C. and Buczkowski S., « Substituted amylose as a matrix for sustained-drug release », *US patent application no. 08/739.539*, (1997) (b).
- Chandrasekaran S. K., Wright R. M. and Yven M. J., « Controlled release: Status and future prospects » in *Controlled Release Delivery Systems*, chap. I, ed. by T. J. Roseman and S. Z. Mansdorf, Marcel Dekker, New York and Basel, (1981).

- Chess R., « Economics of Drug Delivery », *Pharmaceutical Research*, **15**, (1998), p. 172-174.
- Chien Y. W., « Controlled-release drug administration : Logic » in *Novel Drug Delivery Systems*, chap. I, Drugs and the pharmaceutical sciences, Y. W. Chien, Marcel Dekker, New York, (1982).
- Clark A. H., Gidley M. J., Richardson R. K. and Ross-Murphy S. B., « Rheological studies of aqueous amylose gels: The effect of chain length and concentration on gel modulus », *Macromolecules*, **22**, (1989), p. 346-351.
- Clément P., « Étude de l'amylose réticulé comme agent liant en compression directe et en granulation humide », *Mémoire de Maîtrise*, Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, (1994).
- Code of Federal Regulations, , Food starch-modified, Section 172.892, Title 21, Office of the Federal Register National Archives and Records Administration, Washington, D. C., (1992),p.102.
- Colonna P., Tayeb J. and Mercier C., « Starch and starchy products » in *Extrusion Cooking*, ed. by C. Mercier, P. Linko and J. M. Haper, Association of Cereal Chemists, St-Paul, MN, (1989), p. 247-318.
- Colonna P. et Thibault J. F., « Bases moléculaires des phénomènes de gélification des polysaccharides » dans *Propriétés Fonctionnelles des Polysaccharides*, APRIA (Association pour la promotion industrie agriculture), Paris, INRA-NANTES, (1986), p. 77-93.
- Cura J. A., Jansson P. E. and Krisman C. R., « Amylose is not strictly linear », *Starch*, **47**, (1995), p. 207-209.
- D'Arcy P. F., Griffin J. P., Jenkins J. S., Kirk W. F. and Peacock A. W. C., « Sustained release formulation of prednisolone administered orally to man », *Pharm. Sci.*, **60**, (1971), p. 1028-1033.
- Dakkuri A., Schroeder H. G. and De Luca P. P., « Sustained release from inert wax matrices. II. Effect of surfactants on tripeleminamine hydrochloride release », *J. Pharm.*, **67**, (1978), p. 357-360.
- Davidson G. W. R. and Peppas N. A., « Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. V. Relaxation-controlled transport in P (HEMA-co-MMA) copolymers », *J. Control. Rel.*, **3**, (1986) (a), p. 243-258.
- Davidson G. W. R. and Peppas N. A., « Solute and penetrant diffusion in swellable polymers. VI. The Deborah and swelling interface numbers as indicators of the order of biomolecular release », *J. Control. Rel.*, **3**, (1986) (b), p. 259-271.

- Davis S. S., « The design and evaluation of controlled release dosage forms for oral delivery », *STP Pharma*, **3**, (1987), p. 412-417.
- Del Rosario R. R. and Pontiveros C. R., « Retrogradation of Some Starch Mixtures », *Starch/Stärke*, **35**, (1983), p. 86-92.
- Desai S. J., Simonelli A. P. and Higuchi W. I., « Investigation of factors influencing release of solid drug dispersed in inert matrixes », *J. Pharm. Sci.*, **54**, (1965), p. 1459-1464.
- Doane W. M., « Opportunities and challenges for new industrial uses of starch », *Cereal foods world*, **39**, (1994), p. 556-563.
- Doelker E., « Systèmes matriciels et libération d'ordre zéro: Le rôle de l'excipient », *Bull. Tech.*, **78**, (1985) (a), p. 51-60.
- Doelker E., « Propriétés des polymères et principes de préparation des systèmes médicamenteux polymériques » dans *Formes Pharmaceutiques Nouvelles*, chap. II, édité par P. Buri, F. Puisieux, E. Doelker et J. P. Benoit, Technique et documentation (Lavoisier), Paris (1985) (b).
- Doelker E. et Buri P., « Formulation des comprimés à libération prolongée, III. Matrices lipidiques », *Pharm. Acta Helv.*, **56**, (1981), p. 111-118.
- Donovan J. W., Lorenz K. and Kulp K., « Differential Scanning Calorimetry of Heat-Moisture Treated Wheat and Potato Starches », *Cereal Chem.*, **60**, (1983), p. 381-387.
- Doublier J. L., Côté I., Liamas G. and Charlet G., « Effect of thermal history on amylose gelation », *Progr. Colloid Polym. Sci.*, **90**, (1992), p. 1-5.
- Dumoulin Y., Carrière F. and Ingenito A., « Manufacture of cross-linked amylose useful as an excipient for controlled release of active compounds », *US patent no. 08/800,518*, (1998).
- Dumoulin Y., Cartilier L. H. and Mateescu M. A., « Cross-linked amylose tablets containing α -amylase: an enzymatically-controlled drug release system », *J. Control. Rel.*, accepted (1997).
- Dumoulin Y., Clément P., Mateescu M. A. and Cartilier L. H., « Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in compressed tablets », *S.T.P. Pharma Sciences*, **5**, (1994), p. 329-335.
- Dumoulin Y., Cartilier L., Lenaerts V. and Mateescu M. A., « Cross-linked amylose; enzymatically controlled drug release (ECDR) system », *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Mater.*, **20**, (1993), p. 306-307.

- Dumoulin Y., « L'amylose réticulé - polymère biocompatible pour la formulation de comprimés à libération contrôlée de médicament », *Mémoire de Maîtrise*, Département de Chimie, Université du Québec à Montréal, Canada, (1991) (a).
- Dumoulin Y., Preda M., Lenaerts V. et Mateescu M. A., « Aspects cinétiques de la libération contrôlée de théophylline à partir de comprimés d'amylose réticulé », *Annales de l'ACFAS*, **59**, (1991) (b), p. 188.
- Dumoulin Y., Alex S. and Mateescu M. A., « FT-IR Measurements on the hydration and the retention of H-acceptor molecules as a function of cross-linked amylose reticulation degree ». *EuroCarb VI. Abstracts. Volume*, Edinburgh, (1991) (c).
- Dumoulin Y., Lenaerts V. et Mateescu M. A., « Libération contrôlée de théophylline à partir de comprimés d'amylose réticulé ». *Annales de l'ACFAS*, **58**, (1990), p. 217.
- Dunn R. L., « Polymeric matrices » in *Polymeric Drugs and Drug Delivery Systems*, chap. II, ed. by R. L. Dunn and R. M. Ottenbrite, ACS Symposium Series 469, Washington, (1991).
- Eastman J. E., « Cold water swelling starch composition », *US patent no. 4634596*, (1987).
- Edelman E. R., Kost J., Bobeck H and Langer R., « Regulation of drug release from polymer matrices by oscillating magnetic field », *J. Biomed. Mat. Res.*, **19**, (1985), p. 67-83.
- Erlingen R. C., Crombez M. and Delcour J. A., « Enzyme-resistant starch. I. Quantitive and qualitative influence of incubation time and temperature of autoclaved starch on resistant starch formation », *Cereal. Chem.*, **70**, (1993), p. 339-344.
- Elder A. L. and Schoch T. J., « Measuring The Useful Properties of Starch », *Cereal Science Today*, **4**, (1959), p. 202-209.
- Englyst H. N., Kingman S. M. and Cummings J. H., « Classification and measurement of nutritionally important starch fractions », *Eur. J. Clin. Nutr.*, **46**, (1992), p. S33-S50.
- Falconer E. et Patterson G., *Traité de pharmacologie*, chap. II, traduit et adapté par Margot Phaneuf, Montréal, Editions HRW Ltée, (1976).
- Fisher D. K. and Thompson D. B., « Retrogradation of maize starch after thermal treatment within and above the gelatinization temperature range », *Cereal Chem.*, **74**, (1997), p.344-351.

- Flory P. J., « Principles of polymers chemistry » in *Cornell University Press*, Ithaca, New York, (1953).
- Ford J. L., Rubinstein M. H., McCaul F., Hogan J. E. and Edgar P. J., « Importance of drug type, tablet shape and added diluents on drug release kinetics from hydroxypropylmethylcellulose matrix tablets », *Int. J. Pharmaceutics*, **40** (1987), p. 223-234.
- French D., « Fine structure of starch and its relationship to the organization of starch granules », *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **19**, (1972), p. 8-25.
- Garcia M. A., Martino M. N. and Zaritzky N. E., « Comparison of amylose enrichment procedures for food applications », *Cereal Chem.*, **72**, (1995), p.552-558.
- German M. L., Blumenfeld A. L., Guenin Ya. V., Yuryev V. P. and Tulstoguzov V. B., « Structure formation in systems containing amylose, amylopectin, and their mixture », *Carbohydr. Polym.*, **18**, (1992), p. 27-34.
- Gidley M. J. and Robinson G., « Techniques for studying interactions between polysaccharides » in *Methods in plant biochemistry*, vol. 2, ed. by P. M. Dey, Academic Press, New York, (1990), p. 607-642.
- Glenn G. M. and Irving D. W., « Starch-based microcellular foams », *Cereal Chemistry*, **72**, (1995), p. 155-161.
- Godshall M. A. and Solms J., « Flavor and sweetener interactions with starch », *Food Technology*, **6**, (1992), p. 140-145.
- Gore A. Y., « Fluidized bed granulation » in *Granulation technology for bioproducts*, chap. III, ed. By K. L. Kadam, Boca Raton: CRC Press, Florida, (1991), p. 29-69.
- Guilbot A. and Mercier C., « Starch » in *The Polysaccharides*, ed. by G. O. Aspinall, Academic Press, New York, (1985), p. 281.
- Gurr M. I., « The biogenesis of triglycerides » in *The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise*, ed. by P. K. Stumpf and E. E. Conn, Academic Press, New York, (1980).
- Hamerstrand G. E., Hofreiter B. T. and Mehlretter C. L., « Determination of the extent of reaction between epichlorohydrin and starch », *Cereal. Chem.*, **37**, (1960), p. 519.
- Hamid I. S. and Becker C. H., « Release study of sulfaethylthiadiazol (SETD) from a tablet dosage form prepared from spray-congealed formulations of SETD and wax », *J. Pharm. Sci.*, **59**, (1970), p. 511-514.

- Hamilton R. M. and Paschall E. F., « Production and uses of starch phosphates » in *Starch: Chemistry and Technology*, vol. 2, chap. XIV, ed. by R. L. Whistler and E. F. Paschall, Academic Press, New York, (1967), p. 351-368.
- Hartman F. A., Kretschmar H. C. and Tofe A. J., « Radionuclide carriers », *US patent no. 4,002,730*, 1977.
- Helbert W. and Chanzy H., « Single crystals of V amylose complexed with n-butanol or n-pentanol: Structure features and properties », *Int. J. Macromol.*, **16**, (1994), p. 207-213.
- Helbert W., « Données sur la structure du grain d'amidon et des produits de recristallisation de l'amylose », *Thèse préparée au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales*, CNRS Grenoble, (1994), 208 p.
- Heller J., « Use of enzymes and bioerodible polymers in self regulated and triggered drug delivery systems » in *Pulse and Self-Regulated Drug Delivery*, chap. V, ed. by J. Kost, CRC Press, Boca Raton, (1990), p. 93-108.
- Heller J., « Chemically self-regulated drug delivery system », *J. Control. Rel.*, **8**, (1988), p. 111-125.
- Heller J., Pangburn S.H. and Penhale D.W., « Use of bioerodible polymers in self-regulated drug delivery systems » in *Controlled-release technology, pharmaceutical applications*, chap. XIII, ed. by P. I. Lee and W. R. Good, ACS Symposium series 348, (1987).
- Heller J. and Baker R. W., « Theory and practice of controlled drug delivery from bioerodible polymers » in *Controlled Release of Bioactive Materials*, ed. by R. W. Baker, Academic Press, New York, (1980), p. 1-17.
- Herman J. and Remon J. P., « Modified starches as hydrophilic matrices for controlled oral delivery. II. In vitro drug release evaluation of thermally modified starches », *Int. J. Pharm.*, **56**, (1989), p. 65-70.
- Higuchi T., « Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices », *J. Pharm. Sci.*, **52**, (1963), p. 1145-1149.
- Higuchi T. and Leeper H. M., « Osmotic dispenser with means for dispensing active agent responsive to osmotic gradient », *US patent no. 3995631*, (1976).
- Higuchi T. and Leeper H. M., « Improved osmotic dispenser employing magnesium sulphate and magnesium chloride », *US patent no. 3760804*, (1973).
- Hollinger G., Kuniak L. and Marchessault R. H., « Thermodynamic aspects of the gelatinization and swelling of crosslinked starch », *Biopolymers*, **13**, (1974), p. 879.

- Hoseney R. C., Zeleznak K. J. and Yost D. A., « A note on the gelatinization of starch », *Starke*, **38**, (1986), p. 407-409.
- Hulleman S. H. D., Helbert W. and Chanzy H., « Single crystals of V amylose complexed with glycerol », *Int. J. Biol. Macromol*, **18**, (1996), p. 115-122.
- Hsieh D. S. T., « Controlled release systems: past, present, and futur », in *Controlled Release Systems: Fabrication Technology*, vol. I, chap. 1, ed. by D. S. T. Hsieh, CRC Press, Boca Raton, (1988).
- Hsieh D. and Langer R., *Controlled Release Delivery Systems*, ed. by S. Z. Mansdorf and T. J. Roseman, Marcel Dekker, New York, (1983), p. 121-131.
- Imberty A., Chanzy H., Pérez S., Buléon A. and Tran V., « The double-helical nature of the crystalline part of A-starch », *J. Mol. Biol.*, **201**, (1988) (a), p. 365-378.
- Imberty A. and Pérez S., « A revisit to the three-dimensional structure of B-type starch », *Biopolymers*, **27**, (1988) (b), p. 1205-1221.
- Ingani H., « Études des paramètres de formulation influençant les caractéristiques de libération de principes actifs à partir de matrices hydrophiles à base de gomme xanthane et conception de comprimés matriciels à bicouches flottants », *Thèse de doctorat*, Université libre de Bruxelles, (1987).
- Klaudianos S., « Effect of technological factors on the release of active material », *Pharm. Ind.*, **34**, (1972), p. 976-982.
- Kost J. and Shefer S., « Chemically-modified polysaccharides for enzymatically-controlled oral drug delivery », *Biomaterials*, **11**, (1990), p. 695-698.
- Krówczyński L., « Extended - Release dosage form » in *Extended - Release Dosage Forms*, chap. I, ed. by L. Krówczyński, CRC Press, Boca Raton, (1987) (a).
- Krówczyński L., « Biopharmaceutical aspects of the prolonged action formulations design » in *Extended - Release Dosage Forms*, chap. II, ed. by L. Krówczyński, CRC Press, Boca Raton, (1987) (b).
- Krówczyński L., « Theoretical principles applied in various extended release dosage formulation » in *Extended - Release Dosage Forms*, chap. III, ed. by L. Krówczyński, CRC Press, Boca Raton, (1987) (c).
- Kuniak L. and Marchessault R. H., « Study of the cross-linking reaction between epichlorohydrin and starch », *Die Stärke*, **24**, (1972), p. 110-116.
- Kydonieus A. F., « Fundamental concepts of controlled release » in *Controlled Release Technologies: Methods, Theory and Applications*, chap. I, ed. by A. F. Kydonieus, CRC Press, Boca Raton, (1980).

- Lambrechts P. F. T., « Procédé de préparation d'un carboxyméthylamidon, et produit de lavage contenant un tel carboxyméthylamidon », *Demande de Brevet Européen*, 0 166 491, (1986).
- Langer R. and Peppas N., « Chemical and physical structure of polymers as carriers for controlled release of bioactive agents: A review » in *JMS-REV. Macromol. Chem. Phys.*, **C23**, chap. III, ed. by G. B. Butler, K. F. O'Driscoll and G. L. Wilkes, Marcel Dekker, New York and Basel, (1983), p. 61-126.
- Lapidus H. and Lordi N. G., « Some factors affecting the release of a water-soluble drug from a compressed hydrophilic matrix », *J. Pharm. Sci.*, **55**, (1966), p. 840-843.
- Lazarus J., Pagliery M. and Lachman L., « Some factors influencing the release of a drug from a prolonged action matrix », *J. Pharm. Sci.*, **53**, (1964), p. 798-802.
- Le Bail P., Bizot H., Pontoire B. and Buléon A., « Polymorphic transitions of amylose-ethanol crystalline complexes induced by moisture exchanges », *Starch/Stärke*, **47**, (1995), p. 229-232.
- Lee P. I. and Good W. R., « Overview of controlled-release drug delivery » in *Controlled-release technology - Pharmaceutical Applications*, chap. I, ed. by P. I. Lee and W. R. Good, ACS Symposium series 348, (1987).
- Lelièvre J., « Starch gelatinization », *J. Appl. Polym. Sci.*, **18**, (1973), p. 293-296.
- Lenaerts V., Dumoulin Y., Cartilier L. and Mateescu M. A., « Cross-linked amylose tablets for controlled release of drugs », *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, **19**, (1992), p. 30 - 31.
- Lenaerts V., Dumoulin Y. and Mateescu M. A., « Controlled release of theophylline from cross-linked amylose tablet », *J. Control Rel.*, **15**, (1991), p. 39-46.
- Lenaerts V., Moussa I., Dumoulin Y., Mebsout F., Chouinard F., Szabo P., Mateescu M. A., Cartilier L., Marchessault R., « Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances », *J. Control. Rel.*, **53**, (1998), p. 225-234.
- Lerk C. F., Bolhuis G. K. and Smedema S. S., « Interaction of lubricants and colloidal silica during mixing with excipients », *Pharm. Acta. Helv.*, **52**, (1977), p. 33-39.
- Levine H. and Slade L., « Water as a plasticizer: Physico-chemical aspects of low-moisture polymeric systems » in *Water Science Reviews*. Vol. 3, ed. by F. Franks, Cambridge University Press, Cambridge, (1988), p. 79-85.

- Li S., Tang J. and Chinachoti P., « Thermodynamics of starch-water systems: An analysis from solution-gel model on water sorption isotherms », *J. Polym. Sci.* **34**, (1996), p. 2579-2589.
- Lineback D. R., « Current Concepts of Starch Structure and its Impact on Properties », *J. Jpn. Soc. Starch Sci.*, **33**, (1986), p.80-88.
- Lisinska G. and Leszczynski W., « Potato Starch Processing » in *Potato Science and Technology*, chap. 6, édité par G. Lisinska and W. Leszczynski, Elsevier Applied Science, London and New York, (1989).
- Luby P. and Kuniak L., « Crosslinking statistics, 2a. Relative Reactivities of Amylose Hydroxyl Groups », *Macromol. Chem.*, **180**, (1979), p. 2213.
- Marchessault R. H., Morin F., Dumoulin Y. and Ingenito A., « A starch nanostructure self-assembly excipient », submitted to *Macromolecules*, (1998).
- Mateescu M. A., Dumoulin Y., Cartilier L. and Lenaerts V., « Cross-linked polyhydroxylic material for enzymatically controlled drug release », *US patent no. 5,603,956*, (1997).
- Mateescu M. A., Lenaerts V. and Dumoulin Y., « Use of cross-linked amylose as a matrix for the slow release of biologically active compounds », *US patent no. 5,456,921*, (1995).
- Mateescu M. A., Schell H. D. and Bentia T., « The use of cross-linked amylose for the selective determination of α -amylase, by radial diffusion », *Carbohydr. Res.*, **117**, (1983), p. 332-338.
- Mateescu M. A., Cornoiu I. and Schell H. D., « Simultaneous determination of associated alpha and glucoamylase », *Anal. Letters*, **13**, (1980), p. 1567-1577.
- Mateescu M. A., Schell H. D., Mihailescu F. and Cornoiu I., « The use of cross-linked amylose in establishing the alpha or beta amylase activity of an amylolytic preparation », *Biochimie*, **58**, (1976), p. 875-877.
- Melia C. D., « Hydrophilic matrix sustained release systems based on polysaccharide carriers », *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Systems*, **8**, (1991), p. 395-421.
- Mestres C., Colonna P. and Buleon A., « Gelation and Crystallisation of Maize Starch After Pasting, Drum-drying or Extrusion Cooking », *J. Cereal Sci.*, **7**, (1988), p. 123-134.
- Miles M. J., Morris V. J., Orford P. D. and Ring S. G., « The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch », *Carbohydrate Research*, **135**, (1985), p. 271-281.

- Milojevic S., Newton J. M., Cummings J. H., Gibson G. R., Bothman R. L., Ring S. G., Allwood M. C. and Stockham M., « Amylose, the new perspective in oral drug delivery to the human large intestine », *STP Pharma Sciences*, **5**, (1995), p. 47-53.
- Morris V. J., « Starch gelation and retrogradation », *Trends in Food Science & Technology*, July 1990, p. 2-6.
- Moussa I. S. and Cartilier L. H., « Characterization of moving fronts in cross-linked amylose matrices by image analysis », *J. Control. Rel.*, **42**, (1996), p. 47-55.
- Mua J. P. and Jackson D. S., « Fractionation of regular corn starch: A comparison of aqueous leaching and aqueous dispersion methods », *Cereal Chem.*, **72**, (1995), p. 508-511.
- Mugnier J. and Jung G., « Survival of bacteria and fungi in relation to water activity and solvent properties of water in biopolymer gels », *Appl. Environ. Microbiol.*, **50**, (1985), p 108-114.
- Nakano M., Nakazono N. and Inotsume N., « Preparation and evaluation of sustained release tablets prepared with α -starch », *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, (1987), p. 4346-4350.
- Nichols G. K. and Short R. W. P., « Compressed tablets », *US patent no. 3,490,742*, (1970).
- Orthofer F. T., « Corn starch modification and uses », in *Corn: Chemistry and Technology*, Chap. 16, ed. By S. A. Watson and P. E. Ramstad, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, Minnesota, (1987), p. 479-499.
- Park K., Shalaby W. S. W. and Park H., « Biodegradable drug delivery systems », in *Biodegradable hydrogels for drug delivery*, Chap. 8, ed. By K. Park, W. S. W. Shalaby and H. Park, Technomic publication, Lancaster, Pennsylvania, (1993), p. 189-232.
- Patil S. K., « Starches in bakery foods » in *Technical Bulletin of the American Institute of Baking*, ed. by G. Ranhotra, Research Department, vol. XIII, No. 6, (1991), p. 1-8.
- Peppas N. et Bindschaedler C., « Les dispositifs à libération contrôlée pour la délivrance des principes actifs médicamenteux. IV, Systèmes à gonflement contrôlé », *S.T.P. Pharma*, **2**, (1986), p. 38-46.
- Peppas N. A., « Analysis of fickian and non-fickian drug release from polymers », *Pharm. Acta Helv.*, **60**, (1985), p. 110-111.

- Peppas N. A. and Franson N., « The swelling interface number as a criterion for prediction of a diffusional solute release mechanism in swellable polymers », *J. Polym. Sci.*, **21**, (1983), p. 983-997.
- Peppas N. A. et Ségot-Chicq S., « Les dispositifs à libération contrôlée pour la délivrance des principes actifs médicamenteux. II. Aspects fondamentaux de la diffusion des principes actifs dans les polymères ». *S.T.P. Pharma*, **1**, (1988), p. 121-127.
- Peppas N. A. and Sinclair J. L., « Anomalous transport of penetrants in glassy polymers », *Coll. Polym. Sci.*, **261**, (1983), p. 404-408.
- Ponomareff-Bauman M., Soliva M. and Speiser P., « Fat homologs as adjuvants for oral depot drug preparations », *Pharm. Acta Helv.*, **43**, (1968), p. 158-176.
- Prescott L. F., « Clinical limitations of controlled-release dosage form » in *Controlled Release Pharmaceuticals*, chap. II, ed. by J. Urquhart, American Pharmaceutical Association, Washington, (1981).
- Rhine W. D., Hsieh D. S. T. and Langer R., « Polymers for sustained macromolecule release: procedures to fabricate reproducible delivery systems and control release kinetics », *J. Pharm. Sci.*, **69**, (1980), p. 265-270.
- Rime A. F. et Doelker E., « Caractéristiques de compression et comprimabilité des poudres de polymères à usage pharmaceutique », *S.T.P. Pharma*, **3**, (1993), p. 109-129.
- Ring S. G., Colonna P., P'Anson K. J., Kalichevsky M. T., Miles M. J., Morris V. J. and Orford P. D., « The gelation and crystallization of amylopectin », *Carbohydr. Res.*, **162**, (1987), p. 277-293.
- Ring S. G., « Some studies on starch gelation », *Starch*, **37**, (1985), p. 80-83.
- Roberts H. J., « Nondegradative reactins of starch » in *Starch, Chemistry and Technology*, ed. by R. L. Whistler and E. F. Paschall, Academic Press, NewYork, (1965), p. 482.
- Robinson I. C. and Becker C. H., « Sulfaethylthiadiazole release from synthetic was prolonged-release particules. I. Effect of dispersant concentration », *J. Pharm. Sci.*, **57**, (1968), p. 49-53.
- Rosen H. B., Kohn J., Leong K. and Langer R., « Bioerodible polymers for controlled release systems » in *Controlled Release Systems: Fabrication Technology*, vol. II, chap. 5, ed. by D. S. T. Hsieh, CRC Press, Boca Raton, (1988).
- Rouau M. et Thibault M., « Les fibres alimentaires », *APRIA* (association pour la promotion industrie agriculture), Paris, (1987), p. 74-77.

- Roulet P., MacInns W. M., Wursch P., Sanchez R. M. and Raemy A., « A comparative study of the retrogradation kinetics of gelatinized wheat starch in gel and powder forms using X-rays, differential calorimetry and dynamic mechanical analysis », *Food Hydrocolloids*, **2**, (1988), p. 381-396.
- Rubens W. R., « Foodstuffs containing crosslinked starches using STMP », *US patent no. 4,183,969*, (1980).
- Rutenberg M. W. and Solarek D., « Starch derivatives: production and uses » in *Starch: Chemistry and Technology*, 2nd edition, chap. X, ed. by R. L. Whistler, J. N. BeMiller and E. F. Paschall, Academic Press, Florida, 1984, p. 311-387.
- Sair L., « Heat-moisture Treatment of Starch », *Cereal Chem.*, **44**, (1967), p. 8-26.
- Salomon J. L. et Doelker E., « Formulation des comprimés à libération prolongée. Partie I. Matrices inertes », *Pharm. Acta Helv.*, **55**, 1980, p. 174-182.
- Santus G. and Baker R. W., « Osmotic drug delivery: a review of the patent literature », *J. Control. Rel.*, **35**, (1995), p. 1-21.
- Sarko A. and Wu H. C., « The crystal structures of A, B and C-polymorphs of amylose and starch », *Starch*, **30**, (1978), p. 73-78.
- Sarko A., Germino F. J. and Zeitlin B. R., « Water-soluble Amylose: Preparation and properties », *J. Appl. Polym. Sci.*, **8**, (1964), p. 1343-1355.
- Schell H. D., Serban M. and Mateescu M. A., « Amylose derivative having applications in ion exchangers », *Rev. Roumanie Chim.*, **23**, (1978), p. 1143-1147.
- Schoch T. J. and Maywald E. C., « Microscopic Examination of Modified Starches », *Anal. Chem.*, **28**, (1956), p. 382-387.
- Schwartz J. B. and Zelinskie J. A., « The binding and desintegrant properties of the corn starch fractions: amylose and amylopectine », *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **4**, (1978), p. 463-483.
- Schwartz J. B., Simonelli A. P. and Higuchi W. I., « Drug release from wax matrices. II. Application of a mixture theory to the sulfanilamide-wax system », *J. Pharm. Sci.*, **57**, (1968), p. 278-282.
- Serban M., Mateescu M. A. and Schell H. D., « Amylose derivatives for use in gel-filtration », *Romanian patent no. 61524*, (1976) (a).
- Serban M., Schell H. D. and Mateescu M. A., « Amylose derivative having applications in ion exchange chromatography », *Romanian patent no. 62322*, (1976) (b).

- Serban M., Schell H. D. and Mateescu M. A., « Preparation and properties of new amylose based carriers for exclusion chromatography », *Rev. Roum. Biochim.*, **12**, (1975), p. 187-191.
- Shasha B. S., Trimnell D. and Otey F. H., « Starch-borate complexes for EPTC encapsulation », *J. Appl. Polym. Sci.*, **29**, (1984), p. 67-73.
- Shasha B. S., Trimnell D. and Otey F. H., « Encapsulation of pesticides in a starch-calcium adduct », *J. Polym. Sci.: Polymer Chem. Ed.*, **19**, (1981), p. 1891-1899.
- Sheth B. B., Bandelin F. J. and Shangraw R. F., « Compressed tablets » in *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, vol. 1, ed. by H. A. Lieberman and L. Lachman, Marcel Dekker, New York and Basel, (1980), p. 109-224.
- Shogren R. L. and Jasberg B. K., « Aging properties of extruded high-amylose starch », *J. Env. Polym. Degrad.*, **2**, (1994), p. 99-109.
- Short R. W. P. and Verbanac F., « Compressed tablets containing compacted starch as binder-disintegrant ingredient », *US patent no. 3,622,677*, (1971).
- Sievert D. and Wursch P., « Thermal Behavior of Potato Amylose and Enzyme-Resistant Starch from Maize », *Cereal Chem.*, **70**, (1993), p. 333-338.
- Sievert D., Czuchajowska Z. and Pomeranz Y., « Enzyme-resistant starch. III. X-ray diffraction of autoclaved amylo maize VII starch and enzyme-resistant starch residues », *Cereal Chem.*, **68**, (1991), p. 86-91.
- Sievert D. and Pomeranz Y., « Enzyme-resistant starch. II. Differential scanning calorimetry studies on heat-treated starches and enzyme-resistant starch residues », *Cereal Chem.*, **67**, (1990), p. 217-221.
- Sinko P. and Kohn J., « Polymeric drug delivery systems » in *Polymeric Delivery Systems - Properties and Applications*, chap. II, ed. by A. M. El-Nokaly, D. M. Piatt and B. A. Charpentier, ACS Symposium series 520, Washington, (1993).
- Skelly J. P., « Bioavailability and bioequivalence », *J. Clin. Pharmacol.*, **16**, (1976), p. 539-545.
- Slade L. and Levine H., « Water relationships in foods », ed. by H. Levine and L. Slade, Plenum Press, New York, (1989), p. 23.
- Slade L. and Levine H., « Recent advances in starch retrogradation » in *Industrial Polysaccharides*, ed. by S. S. Stilva, V. Crescenzi and I. C. M. Dea, Gordon and Breach Science, New York, (1987), p. 387-429.

- Smith R. J., « Viscosity of Starch Pastes » in *Starch Pastes, Methods in Carbohydrate Chemistry*, vol. IV, ed. by R. L. Whistler, Academic Press, New York, (1962), p. 114-123.
- Solarek D. B., « Phosphorylated starches and miscellaneous inorganic esters » in *Modified Starches: Properties and Uses*, chap. VII, ed. by O. B. Wurzburg, CRC Press, Boca Raton, Florida, (1986), p. 97-112.
- Sullivan J. W. and Johnson J. A., « Measurement of Starch Gelatinization by Enzyme Susceptibility », *Cereal Chem.*, **41**, (1964), p. 73-79.
- Szabo P., Hassan I. and Mateescu M. A., « Crystallinity-release properties relationship in cross-linked amylose matrices », *Proceed. Intern. Symp. Control. Rel. Mater.*, **25**, (1998), p. 852-853.
- Te Wierik G. H. P., Eissens A. C., Bergsma J., Arends-Scholte A. W. and Lerk C. F., « A new generation of starch products as excipient in pharmaceutical tablets. II. High surface area retrograded pregelatinized potato starch products in sustained-release tablets », *J. Control. Rel.*, **45**, (1997), p. 25-33.
- Te Wierik G. H. P., Bergsma J., Arends-Scholte A. W., Boersma T., Eissens A. C. and Lerk C. F., « A new generation of starch product as excipient in pharmaceutical tablets. I. Preparation and binding properties of high surface area potato starch products », *Int. J. Pharm.*, **134**, (1996), p. 27-36.
- Te Wierik G. H. P., Eissens A. C., Besemer A. C. and Lerk C. F., « Preparation, characterization, and pharmaceutical application of linear Dextrins. I. Preparation and characterization of amyloextrin, metastable amyloextrins, and metastable amylose », *Pharmaceutical Res*, **10**, (1993) (a), p. 1274-1279.
- Te Wierik G. H. P., Van der Veen J., Eissens A. C. and Lerk C. F., « Preparation, characterization and application of linear dextrins. Part VI. General applicability and mechanism of programmed release from amyloextrin tablets », *J. Control. Rel.*, **27**, (1993) (b), p. 9-17.
- Theeuwes F., Saunders R. J. and Mefford W. S., « Process for forming outlet passageways in pills using a laser », *US patent no. 4088864*, (1978).
- Theeuwes F. and Higuchi T., « Osmotic dispensing device for releasing beneficial agent », *US patent no. 3845770*, (1974).
- Trimnell D., Shasha B. S. and Otey F. H., « The effect of α -amylase upon the release of trifluralin encapsulated in starch », *J. Control. Rel.*, **1**, (1985), p. 183-190.
- Trimnell D., Shasha B. S., Wing R. E. and Otey F. H., « Pesticide encapsulation using a starch-borate complex as wall material », *J. Appl. Polym. Sci.*, **27**, (1982), p. 3919-3928.

- Trubiano P. C. and Kasica J. J., « Compressible starches as binders for tablets or capsules », *US patent no. 4,551,177*, (1985).
- Trubiano P. C., « Low swelling starch as tablet disintegrants », *US patent no. 4,369,308*, (1983).
- Urquhart J., « Performance requirements for controlled-release dosage form: Therapeutic and pharmacological perspectives » in *Controlled Release Pharmaceuticals*, chap. I, ed. by J. Urquhart, American Pharmaceutical Association, Washington, (1981).
- Van Aerde P. and Remon J.P., « In vitro evaluation of modified starches as matrices for sustained release dosage forms », *Inter. J. Pharm.*, **45**, (1988), p. 145-152.
- Van Der Bij J., « The analysis of starch derivatives » in *Examination and Analysis of Starch and Starch Products*, chap. VII, ed. by J. A. Radley, Applied Science Publishers LTD, London, (1976), p. 189-205.
- van Soest J. J. G., Hulleman S. H. D., de Wit D. and Vliegthart J. F. G., « Crystallinity in starch bioplastics », *Industrial Crops and Products*, **5**, (1996), p. 11-22.
- Ventouras K. et Buri P., « Libération in vitro du sulfate de lithium incorporé à des matrices hydrophiles », *Pharm. Acta Helv.*, **51**, (1976), p. 212-218.
- Veregin R. P., Fyfe C. A. and Marchessault R. H., « Investigation of the crystalline "V" amylose complexes by high-resolution ^{13}C CP/MAS NMR spectroscopy », *Macromolecules*, **20**, (1987), p. 3007-3012.
- Veregin R. P., Fyfe C. A., Marchessault R. H. and Taylor M. G., « Characterization of the crystalline A and B starch polymorphs and investigation of starch crystallization by high-resolution ^{13}C CP/MAS NMR », *Macromolecules*, **19**, (1986), p. 1030-1034.
- Visavarunroj N. and Remon J. P., « Starches and modified starches in tablet formulations », *Pharmaceutical Technology International*, (**Jan, Feb.**), (1992), p. 26-33.
- Visavarunroj N., Herman J. and Remon J. P., « Crosslinked starch as binding agent. I. Conventional wet granulation », *Int. J. Pharm.*, **59**, (1990), p. 73-78.
- Visavarunroj N. and Remon J.P., « Crosslinked starch as a disintegrating agent », *Int. J. Pharm.*, **62**, (1990), p. 125-131.
- Wai-Chiu C., « Enzymatically debranched starches as tablet excipients », *European patent application no. 91100614.6*, (1991).

- Watson S. A., « Structure and composition » in *Corn: Chemistry and Technology*, chap. III, ed. by S. A. Watson and P. E. Ramstad, St. Paul, MN., American Ass. of Cereal Chemists, (1987), p 53- 82.
- Whistler R. L., « Fractionation of starch » in *Starch Chemistry and Technology*, vol. 1, ed. by R. L. Whistler and E. F. Paschall, Academic Press, New York, (1965), p. 331-347.
- Whistler R. L. and Doane W. M., « Characterization of intermediary fractions of high amylose starches », *Cereal Chem.*, **38**, (1961), p. 251.
- Wing R. E., Carr M. E., Doane M. and Schreiber M. M., « Controlled Release of Herbicide from an Unmodified Starch Matrix » in *Polymeric-Delivery-Systems, Properties and Applications*, chap. XIV, ACS Symposium Series 520, (1993), p. 213-219.
- Wing R. E., Maiti S. and Doane W. M., « Effectiveness of jet-cooked pearl cornstarch as a controlled release matrix », *Starch/Stärke*, **39**, (1987), p. 422-425.
- Wiseman E.H. and Federici N.J., « Development of a sustained-release aspirin tablet », *J. Pharm.Sci.*, **57**, (1968), p. 1535-1539.
- Wong P. S. L., Barclay B. L., Deters J. C. and Theeuwes F., « Osmotic device for administering certain drugs », *US patent no. 4765989*, (1988).
- Wu H. C. H. and Sarko A., « The double molecular structure of cristalline A-amylose », *Carbohydr. Res.*, **61**, (1978) (a), p. 27-40.
- Wu H. C. H. and Sarko A., « The double molecular structure of cristalline B-amylose », *Carbohydr. Res.*, **61**, (1978) (b), p. 7-25.
- Wunderlich B., « Crystal Nucleation, Growth, Annealing » in *Macromolecular Physics*, vol. 2, ed. by B. Wunderlich, Academic Press, New York, (1976).
- Wurzburg O. B., « Cross-linked starches » in *Modified Starches: Properties and Uses*, chap. III, ed. by O. B. Wurzburg, CRC Press, Boca Raton, Florida, (1986), p. 41-53.
- Young A. H., « Fractionation of starch » in *Starch: Chemistry and Technolgy*, 2nd edition, chap. VIII, ed. by R. L. Whistler, J. N. BeMiller and E. F. Paschall, Academic Press, Florida, (1984), p. 249-283.
- Yuryev V. P., Nemirovskaya I. E. and Maslova T. D., « Phase state of starch gels at different water contents », *Carbohydr. Polym.*, **26**, (1995), p. 43-46.

Zobel H. F., « Starch granule structure » in *Developments in Carbohydrate Chemistry*, ed. by R. J. Alexander and H. F. Zobel, The American Association of Cereal Chemist, St-Paul, MN, (1994), p. 1-36.

L'AMYLOSE RÉTICULÉ, UN NOUVEL EXCIPIENT PHARMACEUTIQUE

Annexe 1: RÉSUMÉ DES ÉTAPES CRITIQUES DU DÉVELOPPEMENT DE L'AMYLOSE RÉTICULÉ

Le procédé original de fabrication de l'amylose, qui a donné lieu à la découverte des propriétés de l'amylose réticulé comme excipient pour la libération contrôlée (Contramid®) et au dépôt du premier brevet, a considérablement évolué depuis son développement en 1989 dans le laboratoire du Dr Mateescu.

Une première transposition d'échelle (de 20 g à 1 kg) de la fabrication de l'amylose réticulé a été effectuée en 1992 dans le laboratoire du Dr Cartilier. C'est aussi au cours de l'année 1992 que les Universités de Montréal et du Québec à Montréal ont attribué une licence exclusive mondiale de production commerciale du Contramid® à la compagnie Rougier Inc.

Le dépôt d'un deuxième brevet, portant sur l'élargissement de l'application de la technologie du Contramid® (ECCR) pour les principes actifs moins solubles, a eu lieu en 1992. Un troisième brevet, découlant des propriétés liantes et désintégrantées de l'amylose réticulé (degré de réticulation supérieur à 15), a été déposé en 1993. Cette même année, un dossier technique couvrant les aspects de fabrication et de caractérisation de l'amylose réticulé a été rédigé dans le but de faciliter le transfert du procédé de fabrication à la compagnie Rougier Inc. Le transfert du procédé de fabrication, ainsi que les travaux de transposition d'échelle, ont débuté en septembre 1993 au Centre de Recherche et Développement sur les Aliments (CRDA).

En décembre 1994, les universités de Montréal et du Québec à Montréal ont cédé tous leurs droits en faveur de la compagnie Labopharm Inc. Cette dernière effectua, par la même occasion, un placement privé de 6 millions de dollars.

Les travaux de mise à l'échelle et d'optimisation du procédé ont permis de fabriquer les premiers lots de Contramid® acceptables pour effectuer les premiers essais cliniques chez l'homme avec une formulation à libération contrôlée de pseudoéphédrine (1996). Au cours de l'année 1996, la compagnie Labopharm parvient à faire son entrée sur le marché boursier à Montréal et à Toronto. Toujours en 1996, des travaux de recherche et développement effectués au CRDA, ont permis de remplacer la gélatinisation chimique par une technique de gélatinisation thermique de l'amidon à haute teneur en amylose. Vers la fin de l'année 1996, un procédé de fabrication de l'amylose réticulé en milieu totalement aqueux a été développé.

La rédaction et le dépôt d'un DMF (Dossier Maître de Fabrication - type IV

aux USA et type III au Canada) pour Contramid[®] ont été effectués au début de l'année 1997. Le remplacement de l'épichlorhydrine par le trisodium trimétaphosphate (STMP), beaucoup moins toxique et plus facile à utiliser (poudre soluble dans l'eau), a été complété vers la fin de l'année 1997. Faisant suite aux travaux de développement, un brevet portant sur le procédé pilote - industriel et aqueux de la fabrication de l'amylose réticulé a été récemment déposé aux EU (1997) et a été accordé [Dumoulin et al., 1998].

L'implantation des bonnes pratiques de fabrication (BPF/cGMP) dans la totalité de la fabrication du Contramid[®] a été effectuée avec succès au début de l'année 1998. La rédaction d'un nouveau DMF (dépôt au Canada et EU) décrivant le nouveau procédé de fabrication est présentement en cours. Plusieurs études cliniques sont prévues au cours de l'année 1998.

Le transfert du procédé de fabrication dans une usine de fabrication industrielle est présentement en cours et la commercialisation du Contramid[®] est prévue pour l'année 1999.