

Direction des bibliothèques

AVIS

Ce document a été numérisé par la Division de la gestion des documents et des archives de l'Université de Montréal.

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

This document was digitized by the Records Management & Archives Division of Université de Montréal.

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

**Étude de la diffusion dans les hydrogels polymères
par spectroscopie et imagerie RMN**

par

Héloïse Thérien-Aubin

Département de chimie
Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
En vue de l'obtention du grade de Philosophiæ Doctor (Ph.D.)
en chimie

Novembre 2007

© Héloïse Thérien-Aubin, 2007
Université de Montréal



Faculté des études supérieures

Cette thèse par articles intitulée:

**Étude de la diffusion dans les hydrogels polymères
par spectroscopie et imagerie RMN**

Présenté par:

Héloïse Thérien-Aubin

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

Michel Lafleur, Président-rapporteur

Julian Zhu, Directeur de recherche

Françoise Winnik, Membre du jury

Mircea A. Mateescu, Examineur Externe

Jacques Bélair, Représentant du doyen de la FES

Résumé

Les phénomènes de diffusion qui contrôlent le relargage de substances encapsulées dans des matrices polymères sont d'intérêt fondamental dans de nombreuses applications, notamment dans le domaine de la pharmaceutique pour, entre autre, la libération optimisée de principes actifs. Une meilleure compréhension des facteurs qui les influencent devraient conséquemment permettre la conception de systèmes de relargage plus efficaces parce que mieux adaptés aux objectifs recherchés. Ce travail a porté à la fois sur l'étude des phénomènes de diffusion associés à différents systèmes polymères modèles et sur la diffusion de l'eau dans un système réel à base d'amidon réticulé.

Dans un premier temps, la diffusion de trois dendrimères portant des groupements acide carboxylique dans des gels neutres de poly(alcool vinylique) ou dans des gels cationiques de poly(allyl amine) a été étudiée par spectroscopie RMN à gradient de champ pulsé. L'effet de la taille et de la concentration des dendrimères de même que l'effet de la température sur l'auto-diffusion de ces dendrimères ont été analysés. Nos résultats mettent en évidence l'importance du caractère ionique de la matrice polymère sur la diffusion. En effet, dans les gels cationiques, lorsqu'il y a présence d'interactions ioniques entre la sonde diffusante et le réseau polymère, le mécanisme diffusif apparaît plus complexe avec des coefficients de diffusion plus faibles et des énergies d'activation liées au déplacement des molécules diffusantes plus grandes.

Puis, l'imagerie RMN, une technique à la fois non-invasive et non-destructive, a été utilisée pour étudier la diffusion dans des comprimés d'amidon réticulé. L'amidon réticulé à haute teneur en amylose est un nouvel excipient utilisé par l'industrie pharmaceutique pour obtenir un relargage prolongé de médicaments. La

pénétration de l'eau associée au gonflement des comprimés constitue une étape préalable au relargage des molécules actives. Nos études ont porté, plus spécifiquement, sur l'effet de la température et de la présence de principes actifs sur le gonflement de ces comprimés d'amidon réticulé à haute teneur en amylose. Dans tous les cas, on observe un gonflement anisotrope des comprimés et une diffusion pratiquement isotrope. Le gonflement des comprimés de même que la pénétration de l'eau sont influencés de façon importante par la température, le comportement diffusif variant de Fickien à cas II avec l'augmentation de la température. La présence de principes actifs dans les comprimés augmente considérablement le coefficient de diffusion de l'eau à l'intérieur du comprimé sans pourtant affecter le gonflement des comprimés. Les résultats d'imagerie RMN couplés aux études de relargage montrent que le relargage des principes actifs est contrôlé par la diffusion des molécules actives dans l'amidon hydraté.

Finalement, afin d'analyser les différences structurales et la dynamique des chaînes d'amidon entre l'état sec et l'état hydraté, des amidons réticulés préparés par deux méthodes distinctes ont été comparés par RMN du ^{13}C par polarisation croisée à temps de contact variables. Les deux méthodes de préparation conduisent à la formation de comprimés pharmaceutiques ayant des cinétiques de relargage ainsi que des caractéristiques de gonflement et d'absorption d'eau fort différentes, différences que la RMN du ^{13}C à l'état solide avec polarisation croisée à temps de contact variable a permis de relier à l'organisation particulière adoptée par les chaînes de polymères lors de l'hydratation.

Mots clés: Diffusion, auto-diffusion, spectroscopie RMN à gradient de champ pulsé, imagerie RMN, hydrogels, amidon, relargage de principes actifs, comprimés pharmaceutiques, amidon à haute teneur en amylose chimiquement réticulé.

Abstract

Much attention is devoted to the study of diffusion in polymer systems because of its fundamental importance and its application in various fields such as controlled drug delivery in pharmaceutical sciences. A better understanding of the factors controlling the diffusion process could lead to a more effective design of controlled release systems. This work has focused on both, the analysis of the diffusing process in model hydrogel systems, and the study of water uptake in crosslinked high amylose starch tablets.

Pulsed-field NMR spectroscopy was used to study the diffusion of three dendrimers with carboxylic acid end groups in aqueous solutions and in gels of neutral poly(vinyl alcohol) and cationic poly(allylamine). The effects of the size of the diffusing probe, the polymer concentration and the temperature on the self-diffusion of the dendrimers were analyzed. It is shown that the ionic nature of the polymer matrix affects the diffusion of the dendrimers. Ionic interactions between the diffusing probes and the cationic poly(allylamine) gel resulted in a more complex diffusive behavior, lower self-diffusion coefficients and a higher activation energy.

NMR imaging, a non-invasive and non-destructive technique, was used to study water uptake and diffusion in crosslinked high amylose starch tablets. Crosslinked high amylose starch is an innovative excipient used by pharmaceutical industry for the sustained release of drugs. The water uptake and the swelling of crosslinked starch tablets are prerequisites to the drug release. The diffusion of water in the starch tablets was studied at different temperatures and the influence of drug loading on the diffusion processes was also investigated. The results demonstrate, in every case, that tablet swelling was anisotropic while diffusion

was almost isotropic. The effect of temperature on both swelling and water uptake was significant. The diffusive behavior of water changed from Fickian to case II when temperature was raised. In drug-loaded tablets, the water uptake was faster than in plain tablets, whereas the swelling of the tablet was practically unaffected. Finally, the comparison of NMR imaging water uptake data and drug release data shows that drug release from starch based tablet is diffusion controlled.

In order to analyze the differences caused by the hydration of the starch excipient on both the structure and the dynamic of the starch chains, starch excipients prepared by two different crosslinking methods, were compared by cross-polarization ^{13}C NMR spectroscopy with variable contact times. The tablets made of two types of crosslinked starch were shown to have different starch chain organizations when analyzed by CP-MAS ^{13}C NMR spectroscopy.

Keywords: Diffusion, self-diffusion, pulsed-field NMR spectroscopy, NMR imaging, hydrogels, starch, drug release, pharmaceutical tablets, crosslinked high amylose starch.

2.6. References	86
Chapitre 3 : Effet de la température sur la diffusion de l'eau dans des comprimés d'amidon modifié	
3.1. Introduction	90
3.2. Experimental Section	92
3.2.1. Tablet Preparation	92
3.2.2. NMR Imaging Experiments	92
3.3. Results and Discussion	93
3.3.1. NMR Images	93
3.3.2. Estimation of the Initial Diffusion Coefficients from the Images Profiles	95
3.3.3. Description of the Complete Diffusion Process	97
3.3.4. Swelling of the Tablets	102
3.4. Conclusion	107
3.5. References	107
Chapitre 4 : Effet de la présence de principes actifs sur la diffusion de l'eau et la formation de la membrane de gel dans des comprimés d'amidon modifié	
4.1. Introduction	111
4.2. Experimental section	113
4.2.1. Tablet Preparation	113
4.2.2. NMR Imaging Experiments	114
4.2.3. Drug Release Experiments	115
4.3. Results and Discussion	115
4.3.1. Swelling of the Tablets	115
4.3.2. Diffusion Process	120
4.3.3. Self-diffusion Coefficient Imaging	124
4.3.4. Membrane formation	129
4.4. Conclusion	136
4.5. References	137
4.6. Annexe : Comparaison des valeurs de gonflement présentées aux chapitres 3 et 4	142
Chapitre 5 : Étude spectroscopique de l'hydratation d'amidon réticulé	
5.1. Main Text	143
5.2. Experimental Section	153
5.2.1. Preparation of cross-linked high amylose starch	153
5.2.2. Solid state ¹³ C NMR spectroscopy	154
5.2.3. Spectral decomposition	154
5.3. References	155
5.4. Annexe : Précisions concernant la décomposition spectrale	158

Chapitre 6 : Discussion générale	161
6.1. Effets des bouts de chaînes acide carboxylique sur l'auto-diffusion de PEGs arborescents dans le PVA.	161
6.2. Effets de la nature de la matrice polymère sur l'auto-diffusion.....	165
6.3. Gonflement des comprimés d'amidon réticulé.	167
6.4. Étude de la pénétration de l'eau dans les comprimés pharmaceutiques à base d'amidon réticulé.	169
6.5. Évaluation du coefficient de diffusion dans les comprimés d'amidon. .	170
6.6. Relation entre la pénétration de l'eau dans les comprimés pharmaceutiques à base d'amidon et le relargage de principe actif.	174
6.7. Influence du mode de préparation de l'amidon chimiquement modifié sur le comportement de l'excipient.	175
6.8. Références	177
Chapitre 7 : Conclusion.....	180
7.1. Étude de la diffusion par spectroscopie et imagerie RMN et de la dynamique moléculaire par ^{13}C CP/MAS	180
7.2. Auto-diffusion dans les hydrogels modèles	181
7.3. Spectroscopie ^{13}C à l'état solide et imagerie RMN de comprimés d'amidon de maïs modifié.....	182
7.4. Travaux futurs	183

Liste des figures

Figure 1.1. Exemple de diffusion mutuelle dans un mélange binaire	3
Figure 1.2. Mécanisme diffusif observé pour un couple polymère/diffusant donné selon les conditions expérimentales	7
Figure 1.3. Représentation de la diffusion entre les point <i>A</i> et <i>C</i> par le modèle de Petit et <i>al.</i> dans une matrice polymère de mailles ξ	10
Figure 1.4. Désintégration d'un comprimé de Pavachol [®] immergé dans l'eau à 25°C observée par imagerie RMN.....	14
Figure 1.5. Structure de l'amylose et de l'amylopectine	16
Figure 1.6. Diffractogramme des allomorphes de l'amidon	18
Figure 1.7. Spectre RMN du ¹³ C à l'état solide des différents allomorphes de l'amidon.....	18
Figure 1.8. Empilement cristallin des polymorphes A et B de l'amidon.....	19
Figure 1.9. Structure hélicoïdale adoptée par l'amidon (A) simple hélice propre à la structure cristalline de type V et (B) double hélice extraite de la structure cristalline de type A.....	20
Figure 1.10. Réticulation de l'amidon avec l'épichlorhydrine.....	23
Figure 1.11. Réticulation de l'amidon avec le trimétaphosphate de sodium ou l'oxychlorure de phosphore.....	24
Figure 1.12. Méthodes de préparation d'amidon réticulé et modifié	25
Figure 1.13. Diffractogramme de l'amidon à haute teneur en amylose.	25
Figure 1.14. Gonflement en épaisseur de comprimés d'amidon réticulé	27
Figure 1.15. Relargage de théophilline par des comprimés d'amidon réticulé	28
Figure 1.16. Microscopie électronique d'un comprimé d'amidon modifié après une immersion de 15 minutes dans l'eau	28
Figure 1.17. Représentation schématique des séquences RMN utilisées pour mesurer un coefficient de diffusion.....	30

Figure 1.18. Séquences d'impulsions RMN menant à la mesure du coefficient d'autodiffusion	33
Figure 1.19. Spectre RMN d'un dérivé d'éthylène glycol dans un gel de PVA dans l'eau deutérée à différentes intensités de l'impulsion de gradient.....	34
Figure 1.20. Spectre DOSY d'un mélange de chlorure de tétraméthylammonium et de dodécylsulfate de sodium dans l'eau.....	36
Figure 1.21. Expérience de Lauterbur afin de localiser deux tubes contenant de l'eau dans l'espace. (A) Obtention de quatre profils où l'angle d'application du gradient varie par incrément de 45°. (B) Image reconstruite avec ces profils	39
Figure 1.22. Obtention du profil d'une bouteille remplie d'eau par l'encodage de fréquences.....	39
Figure 1.23. Sélection de tranche avec une excitation sélective en présence d'un gradient de champ magnétique.	40
Figure 1.24. Encodage de phases par l'application d'un gradient de champ magnétique entre la perturbation initiale du système et l'acquisition du signal. ...	41
Figure 1.25. Séquences d'impulsions d'imagerie RMN	42
Figure 1.26. Structure d'un dendrimère étudié ayant des groupements terminaux acide carboxylique.	46
Figure 1.27. Principes actifs utilisés dans la formulation des comprimés de CHAS. (A) Ciprofloxacine. (B) Acétaminophène.	48
Figure 2.1. Chemical structures of the dendritic probes used in this study.....	66
Figure 2.2. Attenuation of the NMR signals with the increasing pulsed gradient strength	71
Figure 2.3. Variation of (A) the self-diffusion coefficient of the probe and the viscosity of the solution and (B) the reduced self-diffusion coefficient of the diffusants as a function of the PVA concentration in water at 25°C.....	73
Figure 2.4. Self-diffusion coefficient of dendrimer 1 as a function of polymer concentration	74
Figure 2.5. DOSY spectra of dendrimer 2 in two polymers.....	77
Figure 2.6. Distributions of self-diffusion coefficients for dendrimer 2 in aqueous polymer systems.....	79

Figure 2.7. Temperature effect on (A) the self-diffusion coefficient and (B) reduced self-diffusion coefficient of dendrimer 1 in the PVA system.....	81
Figure 2.8. Reduced diffusion coefficient of selected diffusing probes as a function of PVA concentration.....	84
Figure 3.1. NMR images of starch tablets during sorption at 25°C after various durations of immersion.....	94
Figure 3.2. Water concentration profile and fits along (A) radial direction and (B) axial direction at 25 °C after 35 min.	96
Figure 3.4. Gravimetric mass uptake of starch tablets	101
Figure 3.5. Swelling kinetics of starch tablets along (A) radial direction and (B) axial direction at various temperatures	103
Figure 4.1. NMR ¹ H intensity images of CHAS tablets during water absorption at 37°C at different immersion times.....	116
Figure 4.2. Swelling kinetics of the CHAS tablets.....	118
Figure 4.3. Solvent uptake kinetics of the CHAS tablets in a 1:1 H ₂ O/D ₂ O mixture obtained from the NMR ¹ H signal integration.....	122
Figure 4.4. NMR self-diffusion coefficient images of CHAS tablets during water absorption at 37°C at different immersion time	125
Figure 4.5. Variation of (A) water concentration and (B) self-diffusion coefficient of water in the middle of CHAS tablets	126
Figure 4.6. Effect of the hydration of the CHAS on the reduced self-diffusion coefficient of water.....	128
Figure 4.7. Self-diffusion coefficient profile in the center of the tablet.....	130
Figure 4.8. Thickness of the membrane at the water/tablet interface.....	132
Figure 4.9. (A) Kinetics of drug release from CHAS tablets loaded with 10% acetaminophen and ciprofloxacin. (B) Influence of water uptake on drug release. Lines are drawn only as a visual guide.	135
Figure 5.1. ¹³ C CP/MAS spectra at a contact time of 1.5 ms for dry CHAS I and hydrated CHAS I	146
Figure 5.2. Analysis of the C ₆ peak areas as a function of the contact time used in the CP/MAS NMR experiments	147

Figure 5.3. The CP/MAS ^{13}C NMR spectra acquired at a contact time of 1.25 ms (1), the simulated spectra (2) and the decomposed peaks (3) for (A) dry CHAS II and (B) hydrated CHAS II.	150
Figure 5.4. Analysis of the decomposed C_1 peak components for dry CHAS II as a function of contact time used in the CP/MAS NMR experiments	152
Figure 6.1. Influence du rayon hydrodynamique (A et B) et de la masse molaire (C et D) des molécules diffusantes sur (A et C) le paramètre $k\beta^2$ du modèle de Petit <i>et al.</i> et (B et D) l'énergie d'activation.....	165
Figure 6.2. Distribution de coefficient de diffusion de la sonde 3 à 25°C dans des solutions de PAAm de différentes concentrations.	167
Figure 6.3. Gonflement des comprimés de CHAS	176
Figure 6.4. Temps nécessaire pour atteindre l'hydratation maximale du comprimé d'amidon	176

Liste des tableaux

Table 2.1. Apparent self-diffusion coefficient (D_{app}) and the width of the distribution (α) of the anionic dendritic probes in polymer systems (obtained from eq 2.3).	75
Table 2.2. Activation energy (in kJ mol^{-1}) of the self-diffusion of the anionic dendritic probes in polymer systems.	80
Table 2.3. Comparison of the activation energy of self-diffusion between carboxylated dendrimer and linear and dendritic PEGs in aqueous PVA systems.	85
Table 3.1. Initial (D_0) and Mean (\bar{D}) Diffusion Coefficient of Water in Chemically Modified Starch Tablets.....	97
Table 3.2. Water Penetration Kinetics, Parameter n in Eq 3.3 Obtained with the Solvent Front Measurements and the Water ^1H NMR Signal Integrations.....	98
Table 3.3. Swelling of the Chemically Modified Starch Tablets, Parameters Obtained with eq 3.5.	105
Table 3.4. The Diffusion Coefficients of Water in the New and Previous Tablets during the Initial and Final Stages at Two Different Temperatures.	106
Table 4.1. Swelling, water diffusion coefficient and uptake kinetic of the CHAS tablets in 1:1 mixture of $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ at 37°C	119
Table 5.1. Relaxation parameters obtained from variable contact time ^{13}C CP/MAS NMR experiments with the dry and wet CHAS samples	148
Table 5.2. Analysis of the spectral components of C_1 peak of amylose in the dry and wet CHAS samples.....	151
Tableau 6.1. Auto-diffusion de polymères de type poly(éthylène glycol) dans le poly(alcool vinylique).	164
Tableau 6.2. Coefficient de diffusion de l'eau dans les comprimés d'amidon modifié.....	173

Liste des symboles et abréviations

A :	Aire sous un pic RMN
c :	Concentration en polymère dans le modèle de Petit <i>et al.</i>
C :	Concentration
d :	Distance
D :	Coefficient de diffusion
\bar{D} :	Coefficient de diffusion moyen
D_0 :	Coefficient d'auto-diffusion d'une sonde dans le solvant pur
D_{app} :	Coefficient de diffusion apparent dans la relation KWW
D_s :	Coefficient d'auto-diffusion
E_a :	Énergie d'activation
f :	Coefficient de friction
h :	Constante de Plank
\hbar :	$h/2\pi$
I :	Spin nucléaire
J :	Flux
k :	Fréquence de saut dans le modèle de Petit <i>et al.</i>
k_b :	Constante de Boltzmann
k_d :	Constante reliée à la diffusion
k_s :	Taux de gonflement
M :	Intensité du signal RMN
n :	Paramètre caractéristique du type de comportement diffusif
P :	Moment angulaire
r :	Rayon du comprimé
r.f. :	Radiofréquence
R_h :	Rayon hydrodynamique
S :	Gonflement (<i>Swelling</i>)
t :	Temps
T :	Température
T_1 :	Temps de relaxation spin-réseau ou longitudinal
T_{1p} :	Temps de relaxation longitudinal dans le référentiel en rotation
T_2 :	Temps de relaxation spin-spin ou transversal
T_{df} :	Constante de diffusion de spin
TE :	Temps d'écho
TR :	Temps de répétition
W :	Largeur du pic à mi-hauteur

α :	Facteur d'élargissement de la distribution de coefficient de diffusion dans la relation KWW
β :	Paramètre d'un système polymère solvant dans le modèle de Petit <i>et al.</i>
γ :	Ratio gyromagnétique
δ :	Durée d'une l'impulsion de gradient de champ magnétique ou Déplacement chimique
Δ :	Intervalle de temps entre deux impulsion de gradient de champ magnétique dans les séquences d'impulsion pour la mesure du coefficient d'auto-diffusion
η :	Viscosité
μ :	Moment magnétique
ν :	Qualité du solvant dans le modèle de Petit <i>et al.</i>
ν_0 :	Fréquence de Larmor
ξ :	Distance de corrélation dans un réseau polymère transitoire
ρ :	Densité de spin
τ :	Intervalle de temps entre l'impulsion r.f. à 90° et celle à 180° dans la séquence d'impulsion PGSE
τ_1 :	Intervalle de temps entre la première et la deuxième impulsion r.f. de 90° dans la séquence STE
τ_2 :	Intervalle de temps entre la deuxième et la troisième impulsion r.f. de 90° dans la séquence STE
τ_{CP} :	Temps de transfert de polarisation dans l'expérience de CP/MAS
φ :	Angle de phase
ω_0 :	Vitesse angulaire du moment magnétique

CHAS :	Amidon à haute teneur en amylose chimiquement réticulé (<i>crosslinked high amylose starch</i>)
CP/MAS :	Spectroscopie RMN à l'état solide avec rotation à l'angle magique et transfert de polarisation (<i>cross-polarisation / magic angle spinning</i>)
DOSY :	Spectroscopie de diffusion (<i>Diffusion ordered spectroscopy</i>)
HPMC :	Hydroxypropylmethyl Cellulose
KWW :	Équation de Kohlrausch-Williams-Watts
MW :	Masse molaire (<i>molecular weight</i>)
NMR :	Nuclear magnetic resonance
PAAm :	Poly(allyl amine)
PEG :	Poly(éthylène glycol)
PGSE :	Écho de spin à gradient de champ pulsé (<i>pulsed gradient spin-echo</i>)
PVA :	Poly(alcool vinylique)
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
STE :	Écho stimulé (<i>stimulated echo</i>)

Remerciements

Je tiens à remercier le Professeur Julian Zhu pour m'avoir accueilli dans son groupe de recherches et ainsi m'avoir offert la possibilité de réaliser les travaux contenus dans cette thèse. Je le remercie particulièrement de son appui, de son encouragement et de son enthousiasme face à mes travaux.

Je voudrais remercier aussi le Professeur Robert Marchessault pour son aide et son support dans la compréhension du comportement de l'amidon, ainsi que le Dr. François Ravenelle de Labopharm pour sa collaboration, de même que le personnel du laboratoire Régional de RMN, principalement le Dr. Cédric Malveau, pour leur aide.

Je souhaite également remercier tous mes collègues présents et passés du laboratoire, ainsi que les autres occupants du deuxième étage du PJAB. Grâce à vous, mon séjour à l'université a été des plus divertissants.

Je tiens particulièrement à remercier tous ceux qui soit par intérêt pour le sujet, soit uniquement pour me faire plaisir, liront ou feront semblant de lire cette thèse en entier.

Chapitre 1 : Introduction générale

La diffusion est au cœur de multiples phénomènes d'intérêt aussi bien fondamental qu'appliqué, reliés tout autant à l'ingénierie qu'à la biologie, voire même à l'art culinaire. La diffusion est, par exemple, directement impliquée dans les processus physiologiques de la respiration, permettant les échanges d'oxygène et de dioxyde de carbone et favorisant ainsi la survie cellulaire et l'intégrité fonctionnelle de l'individu. La diffusion joue aussi un rôle crucial dans la résistance mécanique des matériaux. Citons en exemple la diffusion d'ions chlorures dans les armatures d'acier de structures de béton qui est cause de corrosion et conséquemment d'une altération de la performance et de la durabilité de ces structures.¹ On peut aussi citer les fractures de biscuits qui sont plus fréquemment causées par le stress mécanique résultant de la diffusion de l'humidité après cuisson que par une manutention déficiente.²

Bien que les fondements de la diffusion aient été posés il y a plus d'un siècle maintenant, il reste encore beaucoup à connaître. Compte tenu de ses multiples applications potentielles, la diffusion constitue toujours un domaine de recherche extrêmement dynamique. Ceci est particulièrement vrai pour les systèmes polymères utilisés, entre autres, dans le domaine de l'énergie, le bon fonctionnement des piles à combustible étant limité par la diffusion à travers des membranes de polymères,^{3, 4} ou encore dans l'industrie pharmaceutique pour le design de vecteurs de médicaments à relargage contrôlé ou prolongé.

Cependant, afin de concevoir des systèmes de vectorisation plus efficaces, il est essentiel de mieux comprendre les divers facteurs qui mènent au relargage des principes actifs. Or, la diffusion des fluides biologiques dans les matrices

polymères est l'étape première menant au relargage, suivie de la diffusion du principe actif à travers la matrice hydratée. C'est dans cette optique que se situent nos travaux. Un des objectifs visés est d'analyser les facteurs influençant la diffusion dans des hydrogels modèles de poly(alcool vinylique) et de poly(allyl amine) en étudiant l'auto-diffusion par spectroscopie RMN à gradient de champ pulsé afin de pouvoir éventuellement mieux modéliser et prédire la diffusion dans des systèmes pharmaceutiques réels (Chapitre 2). Le deuxième objectif consiste à mieux comprendre le fonctionnement de comprimés d'amidon à haute teneur en amylose chimiquement modifié grâce à l'analyse par imagerie RMN des différents facteurs affectant la diffusion de l'eau dans ce type de comprimés (Chapitres 3, 4 et 5).

1.1. Diffusion

La diffusion est un phénomène de transport de masse par lequel les molécules sont déplacées d'un point de l'espace à un autre. La diffusion est causée par le déplacement thermique aléatoire des molécules diffusantes. La diffusion peut s'établir selon un gradient de concentration jusqu'à ce qu'un équilibre de concentration soit atteint dans le système (Figure 1.1). Sur une échelle macroscopique, ce type de diffusion est défini par un flux diffusif (J) et un coefficient de diffusion (D) et est appelé diffusion mutuelle. Une fois l'équilibre atteint, les molécules sont malgré tout perpétuellement en mouvement. D'un point de vue microscopique, il y a un déplacement net d'une molécule donnée produit par la translation de la molécule dans le système. Ce déplacement, typiquement associé au mouvement Brownien, est appelé auto-diffusion et se caractérise par un coefficient d'auto-diffusion (D_s).

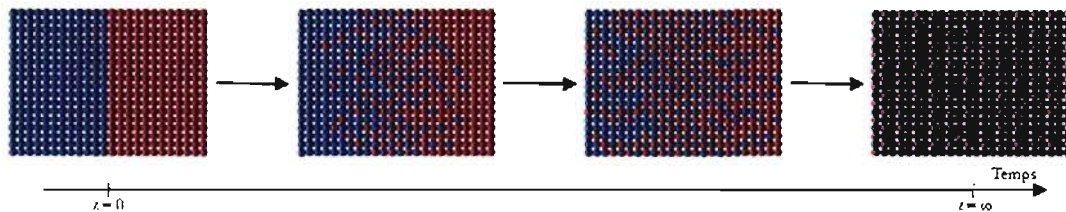


Figure 1.1. Exemple de diffusion mutuelle dans un mélange binaire

Les premières études expérimentales systématiques de la diffusion furent effectuées par Thomas Graham, mieux connu comme l'inventeur de la dialyse.⁵ Au tournant du 19^e siècle, les mélanges gazeux suscitèrent beaucoup d'intérêt. Graham, lui, s'intéressa particulièrement à la vitesse de mélange des gaz et observa que la diffusion spontanée de deux gaz l'un dans l'autre s'effectue par l'échange de volumes de gaz qui sont inversement proportionnels à la racine carrée de la densité des gaz.⁶ De plus, il remarqua que le mélange de gaz légers s'effectue plus rapidement. Il est le premier à décrire la diffusion comme la permutation d'atomes jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Il étudia, par la suite, la diffusibilité des sels dans l'eau, se contentant de comparer la diffusibilité de différentes molécules, sans tenter de développer un modèle mathématique pour ce phénomène.

1.1.1. Description mathématique du processus de diffusion

En 1855, reconsidérant les travaux de Graham sur la diffusion des gaz et des liquides et de ceux de Brücke sur l'osmose, Adolf Fick établit les lois fondamentales de la diffusion. Fick avait l'intime conviction que la propagation des molécules en solution s'effectuait de la même façon que la propagation de la chaleur tel qu'établie par Fourier et tel qu'appliquée de façon analogique à la

propagation de l'électricité par Ohm.⁷ Selon Fick,⁸ le flux diffusif peut être exprimé par :

$$\vec{J}(\vec{r}, t) = -D_i \nabla C_i(\vec{r}, t) \quad 1.1$$

où ∇C_i est le gradient de concentration de l'espèce i . Lorsque le milieu où a lieu la diffusion est homogène, D_i est indépendant des coordonnées. S'il y a diffusion, il y a variation de la concentration de l'espèce i dans le temps, selon l'équation suivante :

$$\frac{\partial C_i(\vec{r}, t)}{\partial t} = -\nabla \cdot \vec{J}_i \quad 1.2$$

Il en découle la deuxième loi de Fick,⁸ que ce dernier valida en mesurant par densimétrie la diffusion du NaCl dans l'eau, où :

$$\frac{\partial C_i(\vec{r}, t)}{\partial t} = D \nabla^2 C_i(\vec{r}, t) \quad 1.3$$

Pour Fick, il ne faisait aucun doute que la diffusion était due aux mouvements des atomes (nouveau concept récemment décrit par Dalton) des substances diffusantes.⁷ Cependant, Fick fut incapable de pousser plus loin son hypothèse. Cette idée ambitieuse de créer un pont entre la description macroscopique de la diffusion et une approche moléculaire fut réalisée bien plus tard par Albert Einstein en 1906, lorsqu'il exprima le coefficient de diffusion, une quantité macroscopique, en termes microscopiques : les sauts moléculaires.

Robert Brown avait en 1827 observé le mouvement aléatoire de grains de pollen en suspension dans l'eau.⁹ Einstein considéra que le mouvement des atomes menant à la diffusion tel qu'observé par Fick était le résultat du même mouvement

aléatoire à une échelle atomique.¹⁰ Le déplacement quadratique moyen d'une molécule diffusante pouvant alors être exprimé par :¹⁰

$$\langle X^2(t) \rangle = 6Dt \quad 1.4$$

où t est l'intervalle de temps de la diffusion.

Pour Einstein, le gradient de concentration pouvait être comparé à une force à laquelle s'oppose la friction entre le milieu et la particule diffusante.¹¹ Dans une solution infiniment diluée, le coefficient de diffusion s'exprime alors comme :

$$D_0 = \frac{k_b T}{f} \quad 1.5$$

où k_b est la constante de Boltzmann, T la température et f le coefficient de friction entre la particule diffusante et le milieu. Georges Stokes avait montré auparavant¹² que pour une sphère de rayon R_h , le coefficient de friction dans un milieu de viscosité η était décrit par :

$$f = 6\pi\eta R_h \quad 1.6$$

Il en découle la loi de Stokes-Einstein :

$$D = \frac{k_b T}{6\pi\eta R_h} \quad 1.7$$

1.1.2. Description mathématique de la diffusion dans les polymères

Tant les lois de Fick que celle de Stokes-Einstein connaissent certaines limitations et décrivent mal la diffusion dans les polymères. Les lois de Fick décrivent adéquatement la diffusion des petites molécules dans un solvant ou

encore la diffusion de deux métaux solides l'un dans l'autre. Cependant, la diffusion de petites molécules dans les polymères, principalement sous la température de transition vitreuse, montre parfois un comportement différent appelé diffusion anormale ou non-fickienne. La diffusion dans les systèmes polymères dépend tout autant des propriétés du réseau que des interactions entre le polymère et le diffusant.

Turner Alfrey a classé les différents mécanismes diffusifs observés dans les systèmes polymères¹³ selon la relation reliant la quantité de matière diffusée (d), ou la distance parcourue par le front de diffusion,¹⁴ et le temps de diffusion (t).

$$d = k_d t^n \quad 1.8$$

k_d est une constante liée au coefficient de diffusion ou à la vitesse de pénétration selon le cas et n , un paramètre qui représente le type de pénétration observé. Les deux cas limites surviennent lorsque n est égal à 0,5 et à 1. Si n vaut 0,5, la diffusion est dite fickienne et les lois de Fick s'appliquent au système : la pénétration du solvant dans le système est définie par un coefficient de diffusion. Lorsque n vaut 1, la diffusion est dite de cas II et est non plus représentée par un coefficient de diffusion mais plutôt par une vitesse de pénétration. Lorsque n prend une valeur entre 0,5 et 1, la diffusion est dite alors anormale. Dans certains cas, le paramètre n peut prendre une valeur supérieure à 1 : le système est alors dit super-cas II.¹⁴ Lors de diffusion anormale, cas II ou super-cas II, les lois de Fick ne décrivent plus de façon adéquate la diffusion dans le système.

Selon Alfrey, c'est la vitesse de relaxation du réseau polymère qui dicte le comportement diffusif dans un système. La diffusion de type cas II s'observe dans des systèmes où la relaxation des chaînes de polymère contrôle le déplacement des molécules qui pénètrent dans le système. La diffusion fickienne, quant à elle, est indépendante de la relaxation.¹³ Pour un système polymère/diffusant donné, les

différents types de diffusion peuvent être observés en variant la température et la concentration du diffusant si ce dernier agit comme plastifiant pour le polymère.¹⁵

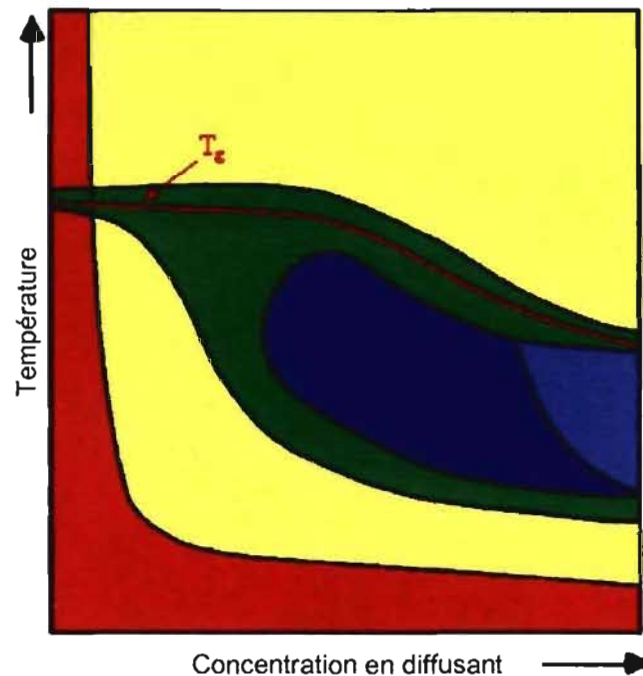


Figure 1.2. Mécanisme diffusif observé pour un couple polymère/diffusant donné selon les conditions expérimentales. ■ diffusion fickienne; ■ diffusion fickienne ou D varie avec la concentration; ■ diffusion anormale; ■ diffusion de type cas II; ■ diffusion de type cas II accompagnée de fissuration du polymère.¹⁵

1.1.3. Modèles théoriques de la diffusion dans les hydrogels

La relation de Stokes-Einstein est valable seulement dans des milieux très dilués. Bien que l'augmentation de la concentration en polymère entraîne une augmentation de la viscosité du milieu, la simple variation du paramètre η dans l'équation 1.8 ne suffit pas pour décrire la variation du coefficient de diffusion qui est alors observée.¹⁶ Plusieurs autres modèles, basés sur la théorie

hydrodynamique, la théorie d'obstruction ou celle du volume libre, tentent de décrire la diffusion dans les solutions et les gels de polymère.¹⁷⁻¹⁹

Fricke établit le premier modèle décrivant la diffusion dans les solutions visqueuses telles que le sang ou des solutions de gélatine.²⁰ Ce modèle est basé sur la théorie de l'obstruction. Dans cette théorie, les chaînes de polymères agissent comme un tamis et sont considérées comme des objets impénétrables et immobiles qui bloquent le passage du diffusant et retardent le déplacement des molécules diffusantes en créant un parcours plus tortueux. Ce modèle n'est cependant valable que pour décrire la diffusion de petites molécules dans des solutions peu concentrées de polymères. Mackie et Meares²¹ développèrent les idées de Fricke en proposant un nouveau modèle plus polyvalent, ayant un plus large domaine de validité, capable de décrire adéquatement la diffusion de petites molécules tant dans les solutions diluées comme le modèle de Fricke que dans des solutions très concentrées.^{22, 23} Les modèles basés sur la théorie de l'obstruction ne concernent que la diffusion de petites molécules. Ce type de modèles ne tenant pas compte d'éventuelles interactions entre les diffusants et le polymère mène à une surestimation du coefficient de diffusion de certains diffusants de telle sorte qu'il est impossible de prédire le comportement réel de toutes les molécules diffusantes.

Afin de modéliser la diffusion dans les systèmes polymères, Fujita, pour sa part, se basa sur la théorie du volume libre.²⁴ Le volume libre correspond à la différence entre le volume d'un système et le volume qu'il occuperait à 0 K. Dans ce cas, la diffusion a lieu lors de la redistribution du volume libre du système. Ceci se produit lorsqu'un trou de volume libre d'une taille supérieure au volume critique, lequel est relié à la taille du diffusant, est créé dans le volume contigu à une molécule diffusante.²⁵ La redistribution du volume libre est causée par le mouvement aléatoire des molécules de solvant. Le modèle de Fujita fut affiné afin de prendre en compte à la fois la contribution du solvant et celle des chaînes de

polymères dans l'estimation du volume libre du système.²⁶ Le désavantage principal de ce type de modèle est que seule la taille du diffusant importe afin de définir la taille du volume critique et que seul ce paramètre est conditionné par la nature du diffusant. Les modèles basés sur la théorie du volume libre, tout comme ceux basés sur la théorie d'obstruction, ne tiennent pas compte de l'existence d'éventuelles interactions entre le diffusant et le réseau polymère.

Le défi des modèles basés sur la théorie hydrodynamique est de représenter de manière adéquate le coefficient de friction (f) dans l'équation d'Einstein (eq 1.5). Dans un gel, les chaînes de polymère augmentent le coefficient de friction, en ralentissant le flux près des chaînes, conséquence des interactions entre le diffusant et le polymère. L'approche utilisée tant par Cukier²⁷ que par Altenberger *et al*²⁸ stipule essentiellement que le coefficient de friction total est donné par la somme des contributions provenant de la friction du diffusant avec chacune des chaînes de la matrice polymère.

1.1.3.1. Modèle de Petit *et al.*

Le modèle de Petit *et al.* décrit la variation du coefficient d'auto-diffusion (D_s) avec la concentration en polymère (c).²⁹ Ce modèle hybride décrit la diffusion (Figure 1.3) comme ayant lieu dans un réseau polymère transitoire où les mailles du réseau ont une distance de corrélation ξ tel que décrit par de Gennes.³⁰ La diffusion d'une molécule entre un environnement initial A et un environnement final C survient à une fréquence k . L'énergie d'activation (E_a) nécessaire pour que la diffusion ait lieu est proportionnelle à $k\beta^2$ où β est une constante du système polymère.

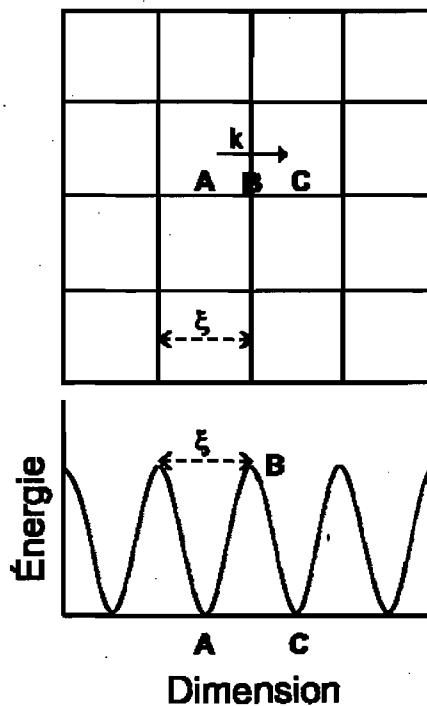


Figure 1.3. Représentation de la diffusion entre les point *A* et *C* par le modèle de Petit *et al.* dans une matrice polymère de mailles ξ .²⁹

Lorsqu'une molécule est animée d'un mouvement aléatoire normal, i.e. Brownien, la diffusion dans un réseau est décrite par :

$$D = \xi^2 k = (\beta c^{-\nu}) k \quad 1.9$$

où, selon la théorie de de Gennes, ν est la qualité du solvant et β un paramètre propre à un système polymère/solvant donné, lequel est indépendant de la concentration en polymère, de la masse molaire du polymère et de la température.³⁰

Si la friction dans le système est donnée par une combinaison linéaire de la friction intrinsèque du diffusant dans le solvant pur et de l'excès de friction dû à la

présence du polymère ($f = f_0 + f_p$), l'utilisation de la loi d'Einstein (eq. 1.5) donne :²⁹

$$\frac{1}{D_s} = \frac{1}{D_0} + \frac{1}{k\beta^2 c^{-2\nu}} \quad \text{donc} \quad D_s = \frac{D_0}{1 + \frac{D_0}{k\beta^2} c^{2\nu}} \quad 1.10$$

La fréquence de saut (k) de la molécule est reliée à la taille de la molécule et aux interactions entre la molécule diffusante et son environnement. Plus la molécule diffusante sera volumineuse, plus la fréquence de saut sera réduite, de même que plus les interactions avec l'environnement seront importantes, plus k sera faible. Tant la valeur de k que la valeur de β ne peuvent être mesurées indépendamment. Cependant, puisque le paramètre k varie exponentiellement avec l'énergie d'activation et que β est indépendant de la température et de c , le paramètre $k\beta^2$ est donc relié à l'énergie d'activation de la diffusion dans un système donné. Contrairement aux valeurs d'énergie d'activation mesurées directement avec la variation de D_s selon la température, les énergies d'activation obtenues par le $k\beta^2$ sont indépendantes de la concentration en polymère et sont caractéristiques d'un système polymère/diffusant/solvant donné.³¹⁻³³

Le modèle de Petit *et al.*, comme tous les autres modèles présentés, de même que ceux basés sur des approches combinées^{18, 34} décrivent bien la diffusion dans certains systèmes. Cependant, des facteurs comme la forme du diffusant ou le type d'interaction entre le diffusant et la matrice sont pauvrement décrits dans ces modèles. De plus, le réseau polymère est toujours décrit comme pratiquement statique face aux molécules diffusantes. Or, lorsque les interactions dans le système sont trop importantes ou que le diffusant est très gros et diffuse très lentement, le comportement diffusif observé est bien plus complexe et les modèles ne sont plus valides.

1.2. Systèmes de relargage à base de polymères

Le contrôle du transport et du relargage de médicaments et protéines par des hydrogels constitue un défi pour l'industrie pharmaceutique qui cherche à concevoir des thérapies plus efficaces et des traitements plus satisfaisants pour les patients. L'utilisation de systèmes de relargage à base de polymères peut viser plusieurs objectifs dont une diminution des effets secondaires, le maintien de concentrations optimales du médicament dans le plasma sanguin pendant une longue période de temps, ou encore la protection du principe actif contre une dégradation ou une élimination trop rapides.³⁵ Les propriétés intrinsèques des systèmes de relargage prolongé permettent d'augmenter le temps de demi-vie *in vivo* avec comme conséquence une augmentation de l'efficacité thérapeutique du médicament.

Différents mécanismes peuvent mener au relargage des molécules actives. La matrice peut répondre à des stimuli environnementaux pour libérer la molécule active comme un changement de pH du milieu³⁶⁻³⁸ ou une variation de la température.^{37, 39, 40} Dans d'autres situations, le relargage de la molécule active peut être causé par le clivage, l'hydrolyse ou l'érosion de la matrice.⁴¹ Le plus souvent, le gonflement de la matrice peut être suivi par la diffusion du principe actif. La diffusion peut avoir lieu à travers les pores de la matrice ou par le transport de la molécule entre les chaînes de polymères. La conjonction du gonflement de la matrice et de la diffusion des molécules actives peut mener à l'obtention d'un profil de relargage d'ordre zéro où la quantité de matière relarguée est constante dans le temps.³⁵

1.2.1. Excipients pour l'administration orale de médicaments

Un excipient est défini comme toute substance autre que l'ingrédient actif ajoutée à une formulation afin d'en faciliter la production de la formulation, d'améliorer la stabilité, la biodisponibilité et l'efficacité de la molécule active ou d'augmenter la satisfaction du patient. Selon le rôle joué par l'excipient dans la formulation finale, l'excipient peut être un diluant, un agent liant, un désintégrant, un lubrifiant, un tensio-actif, un pigment ou encore une saveur.⁴²

La prise orale d'un médicament sous forme de comprimé est souvent la voie d'administration privilégiée. Elle est à la fois économique et sécuritaire car la dose administrée est précise et la stabilité du médicament sous forme solide est accrue. De plus, la voie orale est une voie d'administration moins intrusive qu'une injection par exemple ce qui en fait de loin une des préférées des patients.⁴²

Un des excipients les plus utilisés pour la formulation de comprimés pharmaceutiques par compression directe, tant comme diluant, désintégrant ou encore comme agent liant, est la cellulose microcristalline.⁴³ Cet excipient produit des comprimés durs et peu friables, en plus de permettre une haute teneur en molécule active (10-50%).^{43, 44} Cependant, lors de l'immersion dans l'eau ou dans les fluides biologiques, ces comprimés se désintègrent rapidement (Figure 1.4), entraînant le brusque relargage de leur contenu.

Pour un relargage soutenu, d'autres polymères sont plus appropriés. Ces polymères ont en commun de former, lors de leur immersion, un gel qui protège le comprimé. Plusieurs polymères peuvent être utilisés comme excipient pour le relargage soutenu comme, par exemple, le poly(acide acrylique),⁴⁴ le carragénan,⁴⁴ ou encore les éthers cellulosiques dont l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC).⁴⁵ Différents mécanismes interviennent pour contrôler le relargage des principes

actifs contenus dans les comprimés d'HPMC. La vitesse de pénétration de l'eau dans le comprimé influence l'hydratation globale du comprimé de même que la gélification de la matrice, son gonflement et la vitesse d'érosion de la couche de gel.⁴⁶

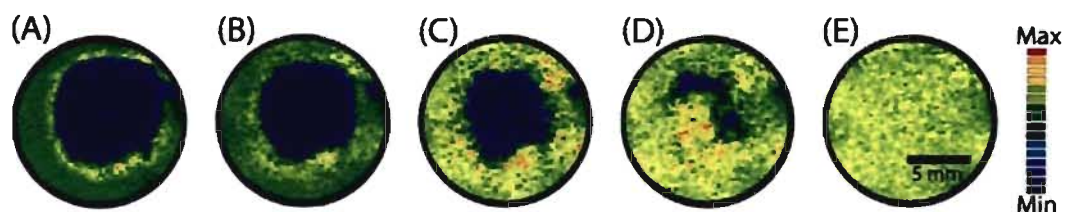


Figure 1.4. Désintégration d'un comprimé de Pavachol[®] immergé dans l'eau à 25°C observée par imagerie RMN après (A) 35 minutes, (B) 3 heures, (C) 4 heures, (D) 10 heures et (E) 11 heures. L'intensité du signal correspond à la concentration en eau. Le Pravachol est un mélange de pravastin, un médicament contre l'hypercholestérolémie, dans une matrice composée principalement de mannitol et de cellulose microcristalline.

1.2.2. Utilisation d'amidon comme excipient

L'intérêt de l'industrie pharmaceutique pour les excipients dérivés de cellulose ou d'amidon est motivé par la grande disponibilité des matières premières et le faible coût de production.^{47, 48} Tout comme la cellulose et ses dérivés, divers dérivés d'amidon peuvent fournir différents excipients très polyvalents.⁴⁴ Les grains d'amidon à l'état natif constituent l'un des désintégrants les plus utilisés mais sont parfois aussi utilisés comme diluant ou comme agent liant.⁴⁴ Lorsque immergés, les grains d'amidon gonflent légèrement, ce qui

entraîne le bris du comprimé. Le dérivé de glycolate de sodium d'amidon réticulé est encore plus intéressant comme désintégrant, puisqu'il gonfle davantage et ce, plus rapidement.⁴⁹ L'amidon pré-gélatinisé, lui, est fréquemment utilisé comme agent liant. L'hydrolyse de l'amidon suivit de l'hydrogénation du glucose ainsi produit permet la production massive de sorbitol et de mannitol, tous deux utilisés comme diluant dans la fabrication de comprimés.⁴⁴ Plusieurs amidons modifiés sont aussi utilisés comme diluant dans les systèmes de relargage prolongé des médicaments.⁵⁰⁻⁵² Les propriétés de ces différents systèmes sont intimement liées aux propriétés de l'amidon.

1.2.2.1. Structure de l'amidon

L'amidon est un mélange de deux polymères naturels, l'amylose et l'amylopectine. Ces deux polymères sont constitués de molécules de D-glucopyranose liées par des liens acétal en positions α -1,4. L'amylose est un polymère linéaire composé de 250 à 5 000 unités de glucose.⁴⁷ L'amylopectine est, quant à elle, un polymère légèrement branché de haute masse molaire composé de 10 000 à 100 000 unités de glucose,⁴⁷ et où on retrouve, en plus des liaisons α -1,4 de l'amylose, de 2 à 5 % de liaison α -1,6. La teneur en amylose et en amylopectine dans l'amidon varie selon l'origine des grains d'amidon. Typiquement, l'amylose constitue entre 15 et 30 % de la masse du grain.⁵³ Cependant, dans les années 1940 un gène récessif menant à la production d'amidon enrichi en amylose a été identifié chez certaines souches de maïs. Cette découverte a mené à la production de variétés de maïs dont l'amidon contient 50, 70 et même 90 % d'amylose.

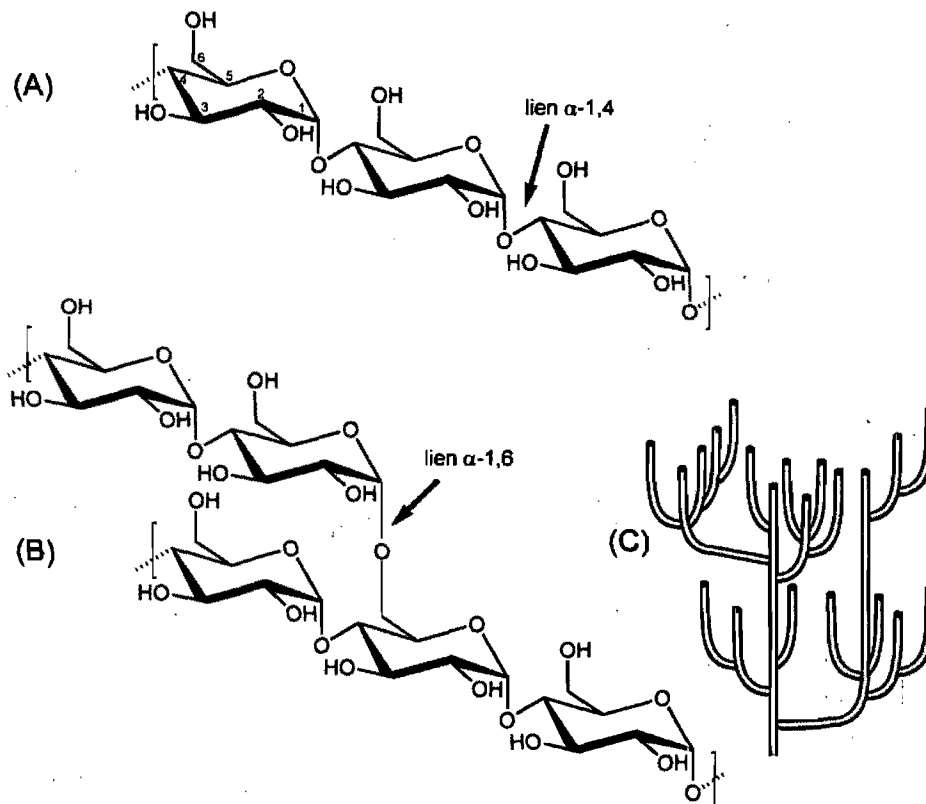


Figure 1.5. Structure de (A) l'amylose et (B) l'amylopectine. (C) Structure arborescente de l'amylopectine.

Les points de branchements dans l'amylopectine sont répartis dans le polymère de façon à ce qu'une structure arborescente soit adoptée par la molécule. Chaque branche de l'amylopectine a une longueur de 20 à 30 unités de glucose. Cette structure arborescente donne une certaine flexibilité et confère à l'amylopectine une qualité rare chez les polymères ramifiés : la possibilité de cristalliser.

L'amidon, qu'il soit naturel ou modifié, se retrouve dans une grande variété de formes cristallines. La forme cristalline préférentiellement adoptée par l'amidon dépend tout autant des particularités structurales de l'amylopectine que du rapport

amylose/amylopectine.⁵⁴ En conséquence, le type de structure observée dans un amidon dépend de l'origine biologique des grains. Cette structure cristalline est identifiable par diffraction des rayons-X (Figure 1.6) et spectroscopie RMN du ^{13}C à l'état solide (Figure 1.7). L'étude comparative de la cristallinité par RMN ^{13}C et par diffraction des rayons-X montre une cristallinité deux fois supérieure par RMN que par diffraction des rayons-X car seulement une partie des domaines ordonnés sont suffisamment grands pour diffracter les rayons-X.^{54, 55}

Les grains provenant de céréales (maïs, blé, riz) montrent typiquement un diffractogramme caractéristique de la forme cristalline A qui est favorisée par la présence d'amylopectine possédant des branches courtes et des points de branchements rapprochés.⁵⁴ Ceux qui proviennent de tubercules ou de fruits ont une signature différente due à la présence de la forme cristalline B, favorisée par des longs segments d'amylopectine. Certains grains d'amidon, comme ceux des légumineuses, montrent un diffractogramme différent, la forme C, qui est en fait le résultat d'un mélange de domaines cristallins de structure A et de structure B.⁵⁶ Chez les pois, par exemple, l'amidon adopte une structure cristalline de type B au centre du grain d'amidon alors que la périphérie du grain est composée de structure cristalline de type A.⁵⁷

L'amidon peut aussi prendre une forme cristalline de type V (d'après Verkleisterung⁵⁸ de kleister qui signifie 'amidon gélatinisé'). Cette forme, typique des amidons modifiés, est aussi présente dans l'endosperme de certains grains d'amidon à l'état natif. Elle se retrouve lorsqu'il y a formation de complexes d'inclusion entre l'amylose et des acides gras, de l'eau, des alcools, de l'iode ou d'autres petites molécules. La forme cristalline V est observée dans les amidons modifiés suite à la chauffe d'une solution d'amidon contenant les petites molécules à complexer, à une température supérieure à la température de gélatinisation. C'est lors du refroidissement de la solution que les complexes seraient formés.⁵⁹

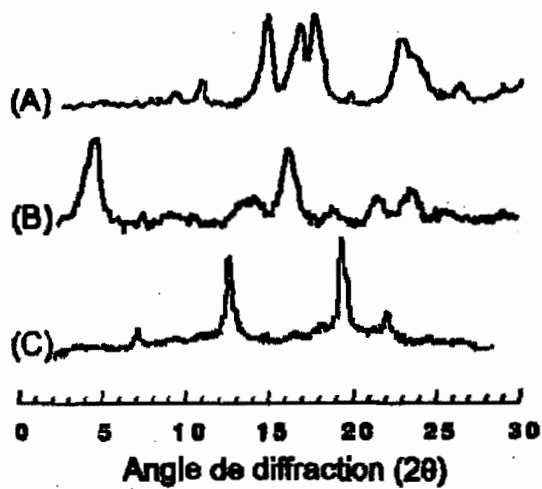


Figure 1.6. Diffractogramme des allomorphes de l'amidon. (A) Structure cristalline de type A; (B) structure cristalline de type B et (C) structure cristalline de type V.⁵⁶

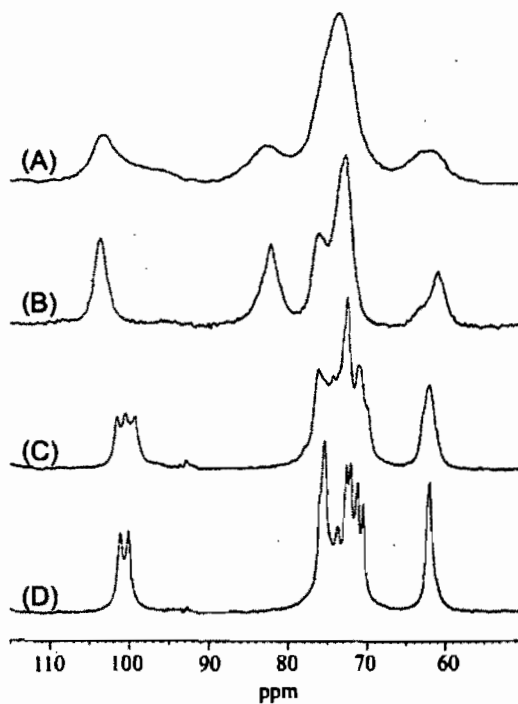


Figure 1.7. Spectre RMN du ^{13}C à l'état solide des différents allomorphes de l'amidon. (A) Amidon amorphe; (B) Structure cristalline de type V; (C) Structure cristalline de type A; (D) Structure cristalline de type B.⁶⁰

Les structures à la base des formes cristallines A et B sont similaires; elles sont, toutes deux, issues de l'empilement de doubles hélices d'amylose ou d'amylopectine. La forme V, quant à elle, est composée d'hélices simples. Les hélices de type V sont composées de 6 unités de glucose par tour pour un pas de 0,8 nm.⁶¹ La cavité formée au centre de l'hélice est suffisamment grande pour accueillir les molécules complexées. Les doubles hélices des formes cristallines A et B sont formées de six unités de glucose par tour avec un pas de 2.1 nm.⁶²⁻⁶⁵ Dans les domaines cristallins de type A, les doubles hélices sont empilées dans une cellule monoclinique^{64, 65} où chaque hélice possède 6 voisines alors que pour les cristaux de type B, les doubles hélices sont dans une cellule hexagonale⁶⁵ où chacune possède trois voisines. La densité des structures de type A est supérieure à celles de type B principalement à cause de la plus grande proximité des doubles hélices.

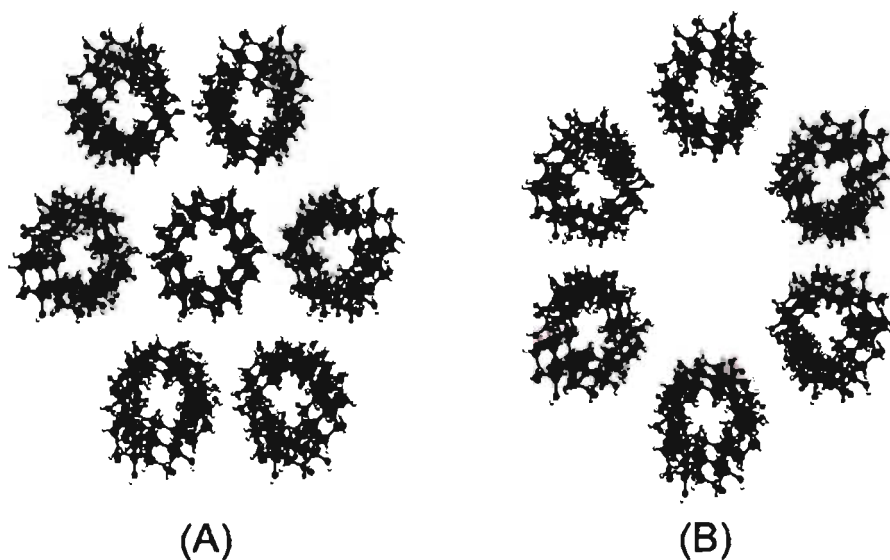


Figure 1.8. Empilement cristallin des polymorphes A et B de l'amidon. D'après les mailles cristallines de Morgan, K.R. *et al.*⁶⁵

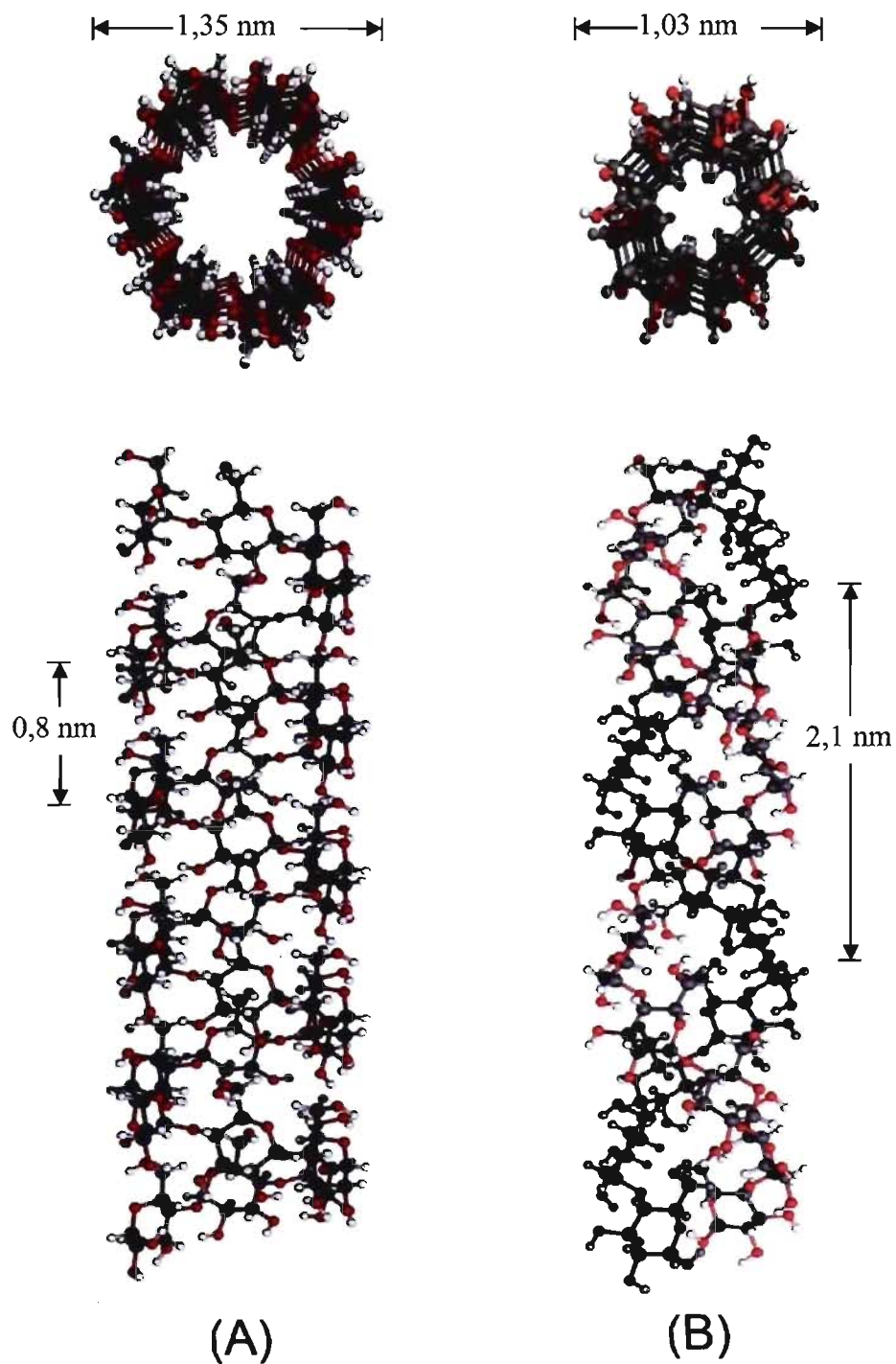


Figure 1.9. Structure hélicoïdale adoptée par l'amylose (A) simple hélice propre à la structure cristalline de type V et (B) double hélice extraite de la structure cristalline de type A. Adapté de Immel, S *et al.*⁶¹

1.2.2.2. Transitions thermiques de l'amidon

L'industrie de l'amidon a développé son propre vocabulaire pour décrire les transitions subies par les solutions et les gels d'amidon. La gélatinisation est une transition endothermique irréversible associée à la perte des domaines cristallins et de la structure lamellaire du grain.⁵⁴ Lorsqu'une suspension d'amidon dans l'eau est chauffée, l'eau diffuse à l'intérieur du grain provoquant un léger gonflement. La chaleur, quant à elle, permet de rompre les liens hydrogène qui maintiennent l'intégrité du grain d'amidon et de sa structure cristalline. La gélatinisation s'accompagne d'une ségrégation partielle de l'amylose et de l'amylopectine, l'amylose se retrouvant en partie expulsée du cœur du grain d'amidon. Cette ségrégation de l'amylose, aussi appelée lixiviation, s'accompagne d'une importante augmentation locale de la viscosité de la suspension des grains d'amidon. C'est ce phénomène qui est mis à profit lorsque l'amidon est utilisé comme agent épaississant. La température de gélatinisation d'une suspension d'amidon est largement dépendante du nombre d'unités de glucose impliquées dans les doubles hélices : plus le nombre de résidus est élevé, plus la température de gélatinisation augmente. La gélatinisation est généralement observée entre 50 et 110 °C,⁵⁴ mais elle peut aussi être observée à plus basse température en milieu fortement alcalin.

La rétrogradation est, quant à elle, une transition exothermique caractérisée par l'agrégation et la cristallisation des chaînes d'amidon dans un gel.⁵⁴ Le rassissement du pain est un exemple de rétrogradation de l'amidon.⁶⁶ Typiquement, la rétrogradation d'un gel d'amidon s'accompagne d'une augmentation de la rigidité de l'échantillon.⁶⁷ Lors de la rétrogradation de solution de haute concentration en amidon, il y a formation d'un réseau tridimensionnel rigide.⁶⁸

1.2.2.3. Amidon de maïs à haute teneur en amylose

Les propriétés de l'amidon de maïs à haute teneur en amylose sont différentes de celles des amidons traditionnels plus riches en amylopectine. Leur température de gélatinisation est plus élevée⁵⁸ et s'étend sur une gamme de températures plus large,⁵⁵ leur gonflement est plus faible.⁵⁸ Enfin, ils forment des gels plus forts et plus résistants à la fracture⁶⁹ et résistent mieux à la dégradation par l'amylase.⁵⁸

Les différences observées entre l'amidon de maïs à haute teneur en amylose et l'amidon de maïs 'normal' ne s'explique pas uniquement par la différence de leur ratio amylose/amylopectine, mais aussi par l'architecture différente de cette amylopectine. En effet, dans l'amidon de maïs à haute teneur en amylose, l'analyse par chromatographie du produit de l'amylopectine obtenu par traitement avec de l'isoamylase, une enzyme qui clive spécifiquement les liens en position α -1,6, montre que l'amylopectine des souches de maïs hybrides à haute teneur en amylose a une plus grande portion de chaînes latérales longues et moins de chaînes latérales courtes que ce qui est typiquement retrouvé dans l'amylopectine de maïs.⁵⁵ C'est à cette structure singulière qu'est attribué le fait que l'amidon de maïs à haute teneur en amylose adopte une structure cristalline de type B avec la présence d'hélices simples de type V alors que l'amidon de maïs présente typiquement une structure cristalline de type A.⁵⁸ La présence importante d'hélices V résulte de la formation accrue de complexes d'inclusion entre l'amylose et des acides gras, lesquels diminuent la solubilité de l'amidon.

La cristallinité des amidons à haute teneur en amylose est aussi plus faible. Le degré de cristallinité est influencé par plusieurs facteurs dont la teneur en amylose et en amylopectine dans le grain. Les grains d'amidon provenant de souches de maïs hybrides à haute teneur en amylopectine (> 95 %) ou de souches de maïs 'normales' (70 % d'amylopectine) ont un taux de cristallinité d'environ 50 %, ⁷⁰

alors que les grains d'amidon de maïs à haute teneur en amylose possèdent un taux de cristallinité inférieur à 35 %⁵⁵.

1.2.3. Excipients à base d'amidon réticulé

L'utilisation de l'amidon natif comme excipient est plutôt limitée car sa compressibilité restreinte mène à la formation de comprimés très friables qui manquent de dureté et sont sujets à la lamination.⁴⁴ Cependant, la modification chimique de l'amidon permet d'obtenir des excipients bien plus polyvalents.^{50-52, 71-80} Une des plus fréquentes modifications chimiques de l'amidon est la réticulation. Plusieurs agents de réticulation peuvent être utilisés dont l'épichlorhydrine^{50, 72, 81} (Figure 1.10), le trimétaphosphate de sodium ou l'oxychlorure de phosphore^{52, 76, 82} (Figure 1.11). L'épichlorhydrine est toxique et carcinogène,⁸³ c'est pourquoi des agents réticulant alternatifs sont de plus en plus utilisés pour la préparation d'amidon modifié par les industries pharmaceutiques et alimentaires.⁵²

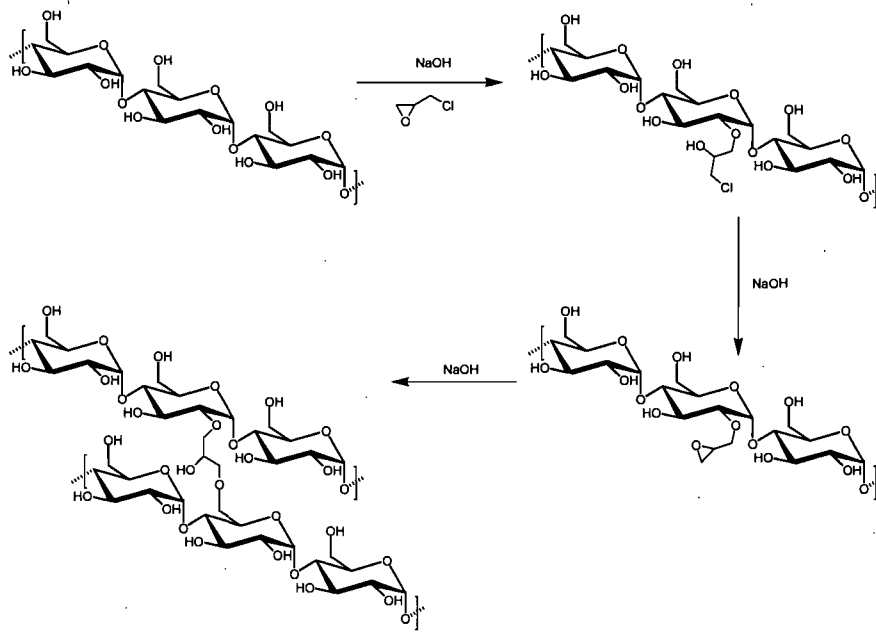


Figure 1.10. Réticulation de l'amidon avec l'épichlorhydrine.⁵⁸

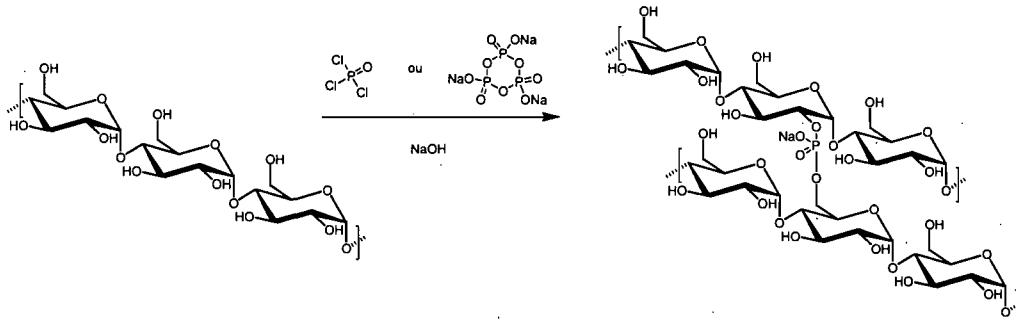


Figure 1.11. Réticulation de l'amidon avec le trimétaphosphate de sodium ou l'oxychlorure de phosphore.⁴⁷

Les excipients à base d'amidon réticulé provenant de maïs hybride à haute teneur en amylose (70 %) tels ceux étudiés aux chapitres 3, 4 et 5 ont été préparés par deux méthodes différant par la séquence des étapes de synthèse (Figure 1.12).^{51, 52} Dans la première méthode, l'amidon est d'abord gélatinisé, ce qui entraîne une ségrégation partielle de l'amylose et de l'amylopectine ainsi que la perte de la structure du grain d'amidon, avant la réticulation. Dans le second cas, la réticulation a lieu dans un milieu faiblement alcalin à basse température ce qui permet de conserver la structure du grain d'amidon et de prévenir la gélatinisation à cette étape. Dans ce cas, la gélatinisation est effectuée après la fonctionnalisation de l'amidon avec de l'hydroxypropylène. Dans les deux cas cependant, la pâte d'amidon obtenue est séchée par nébulisation, l'évaporation rapide de l'eau permettant de conserver l'amidon modifié sous forme non cristalline (Figure 1.13).

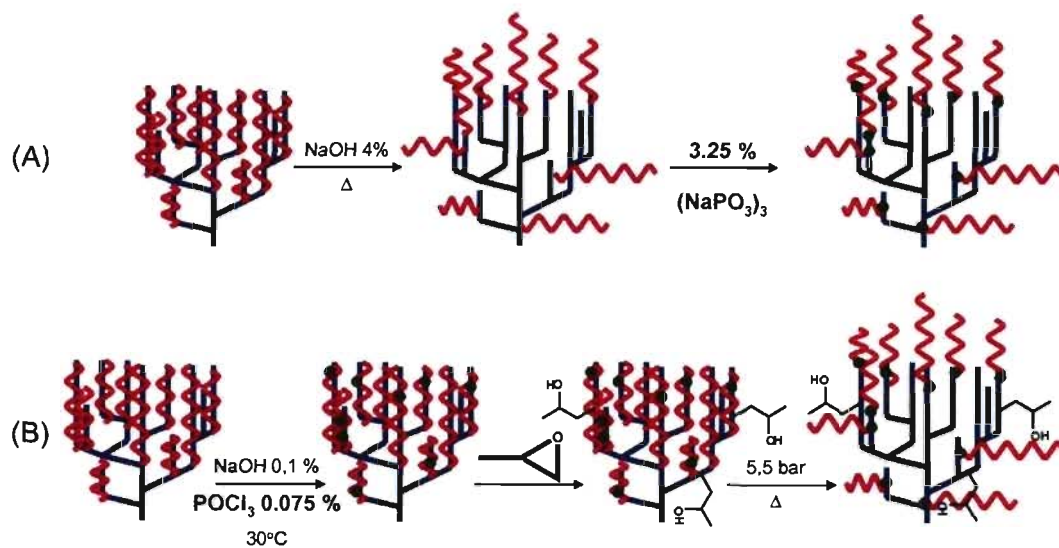


Figure 1.12. Méthodes de préparation d'amidon réticulé et modifié. (A) CHAS I;⁵¹ (B) CHAS II.⁵² ■ Amylose; ■ Amylopectine; ■ Agent réticulant.

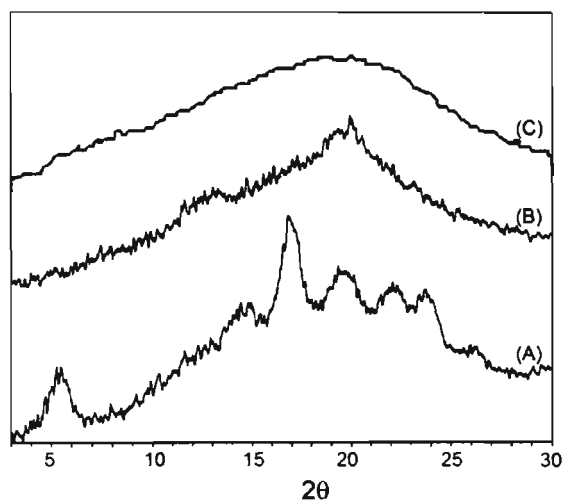


Figure 1.13. Diffractogramme de l'amidon à haute teneur en amylose. (A) Amidon natif;⁸² (B) CHAS I;⁸² (C) CHAS II.

La réticulation de l'amidon est nécessaire afin d'augmenter la stabilité et la dureté des gels d'amidon formés. L'instabilité des produits d'amidon est souvent associée à la rétrogradation des chaînes en solution.⁵⁸ D'un point de vue moléculaire, la réticulation sert à greffer l'amylose aux branches d'amylopectine de façon covalente.⁸⁴ La réticulation et l'hydroxypropylation servent à brimer la réorganisation des chaînes d'amidon menant à la rétrogradation.⁸⁵ La gélification, quant à elle, est essentielle afin d'augmenter l'hydrophilicité de l'excipient.⁵⁸

Contrairement à d'autres matrices comme le HPMC qui gonfle de façon continue, les comprimés formés avec le CHAS gonflent de façon limitée et conservent une forme bien définie de telle sorte que quelques heures après l'immersion, un taux de gonflement constant est observé. Ce comportement est associé à la rétrogradation des chaînes d'amidon lors de l'hydratation du réseau polymère. Dans les comprimés secs, l'amidon est présent essentiellement à l'état non-cristallin avec des traces de simples hélices de type V.^{81, 86} Lors de l'hydratation, la formation de doubles hélices typiques de la forme cristalline B est observée par spectroscopie RMN du ¹³C.⁸² Ces doubles hélices agissent alors comme de nouveaux points de réticulation physique qui limitent le gonflement et contribuent à l'intégrité du comprimé en formant un réseau tridimensionnel à travers le comprimé.

Le gonflement de la matrice polymère peut affecter le relargage des principes actifs contenus dans le comprimé. Selon Flory, plus un polymère est réticulé, plus son gonflement est limité.⁸⁷ Cependant, dans le cas des comprimés de CHAS, la tendance opposée est observée (Figure 1.14), un phénomène singulier lui aussi associé à la rétrogradation de l'amidon. Lorsque le degré de réticulation de l'amidon augmente, la mobilité des chaînes d'amidon diminue et brime la formation des doubles hélices de type B.⁸⁸ Puisque ce sont ces doubles hélices qui

limitent le gonflement, une réorganisation moins importante en doubles hélices mène à l'obtention d'un réseau moins organisé qui gonfle davantage.

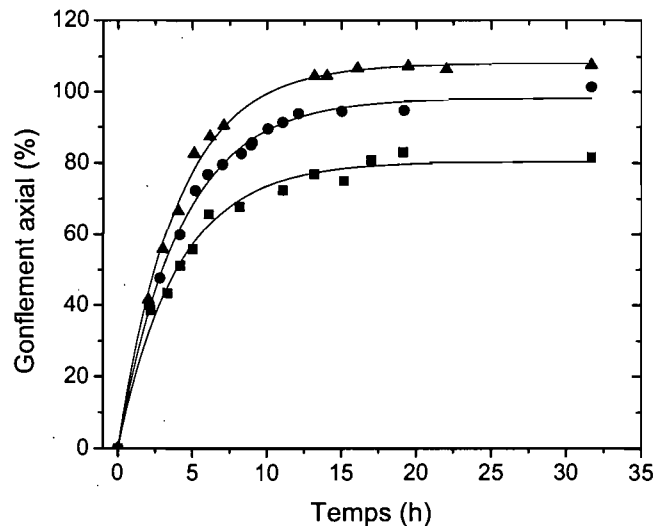


Figure 1.14. Gonflement en épaisseur de comprimés d'amidon réticulé avec (■) 6 % p/p, (●) 8 % p/p et (▲) 11 %p/p d'épichlorohydrine contenant 10% de diltiazem HCl.⁸⁹

Le gonflement plus important des CHAS ayant un degré de réticulation plus important s'accompagne d'une pénétration de l'eau plus rapide,⁸⁹ et d'une diminution du temps nécessaire au relargage d'un principe actif (Figure 1.15).^{50, 72} La rétrogradation de l'amidon conduit à l'obtention d'un gel à l'interface entre le comprimé et l'eau (Figure 1.16). C'est ce gel de faible porosité⁹⁰ qui serait responsable du relargage contrôlé du principe actif.⁸⁵ Une rétrogradation limitée mènerait donc à la formation d'une couche de gel moins uniforme et consistante à la surface du comprimé, ce qui, en conséquence, favoriserait le gonflement et le relargage rapide du principe actif.

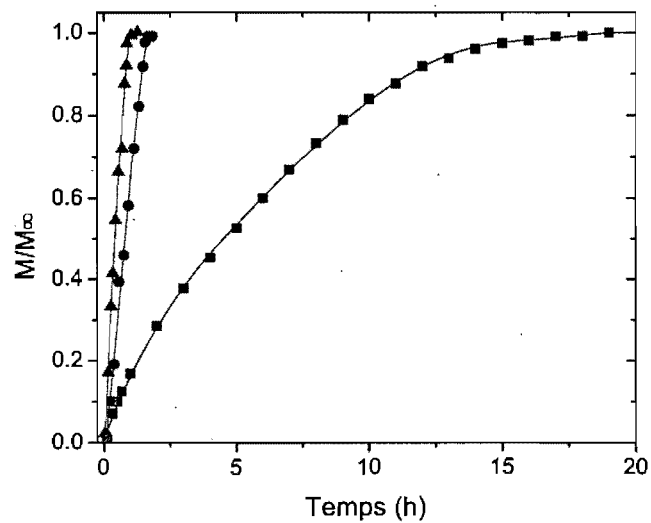


Figure 1.15. Relargage de théophilline par des comprimés d'amidon réticulé avec (■) 7,5 % p/p, (●) 12 % p/p et (▲) 20 %p/p d'épichlorohydrine.⁷²

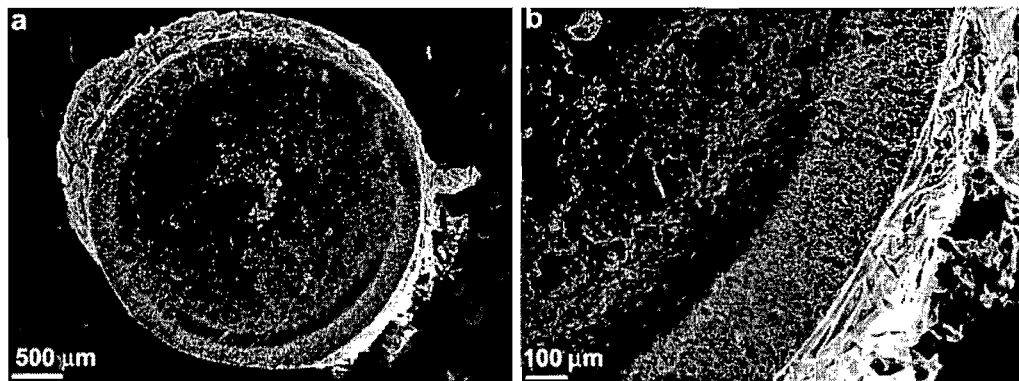


Figure 1.16. Microscopie électronique d'un comprimé d'amidon modifié après une immersion de 15 minutes dans l'eau. (A) Vue globale du comprimé. (B) Agrandissement de la région interfaciale.⁹⁰

1.3. Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire est un outil de choix pour étudier tant la diffusion mutuelle⁹¹⁻⁹⁴ que l'auto-diffusion.^{33, 95-97} La RMN s'impose face aux techniques alternatives telles que la fluorescence,⁹⁸⁻¹⁰⁰ la diffusion de la lumière dynamique,^{101, 102} ou l'utilisation de la cellule de diffusion^{103, 104} par sa polyvalence, et sa facilité d'utilisation et de mise en œuvre et parce qu'elle permet d'étudier des mélanges complexes sans aucune modification.

1.3.1. Principes de base

Pour un noyau possédant un spin nucléaire non-nul ($I \neq 0$), le moment angulaire (P) du noyau est proportionnel au moment magnétique (μ).¹⁰⁵

$$\mu = \gamma P = \hbar \gamma \sqrt{I(I+1)} \quad 1.11$$

où la constante de proportionnalité γ , le ratio gyromagnétique, est une caractéristique propre au noyau. Un noyau de spin nucléaire I peut prendre $2I+1$ orientations différentes. Lorsqu'un noyau ayant un moment magnétique non-nul est placé dans un champ magnétique (B_0), le moment magnétique de chaque noyau s'oriente selon B_0 et entre en précession autour de l'axe du champ magnétique selon la relation de Larmor :¹⁰⁵

$$\omega_0 = 2\pi\nu_0 = \gamma B_0 \quad 1.12$$

où ω_0 est la vitesse angulaire du moment magnétique nucléaire et ν_0 sa fréquence de Larmor. Dans un champ magnétique, les différentes orientations du spin nucléaire possèdent des énergies différentes. Une transition entre les différents états d'orientation du spin d'un noyau est possible quand l'énergie d'un

rayonnement externe est égale à la différence d'énergie entre deux orientations du spin nucléaire. Cette transition est induite par l'absorption d'énergie dans le domaine des radiofréquences.

1.3.2. Spectroscopie RMN à gradient de champ pulsé

Différentes techniques en spectroscopie RMN permettent de mesurer le coefficient d'auto-diffusion. Ces techniques utilisent toutes l'application de gradients de champs magnétiques sur l'échantillon afin 'd'encoder' la position des molécules, et de connaître ainsi le mouvement de translation de la molécule étudiée. Les expériences de diffusion RMN peuvent se résumer schématiquement de la façon suivante :

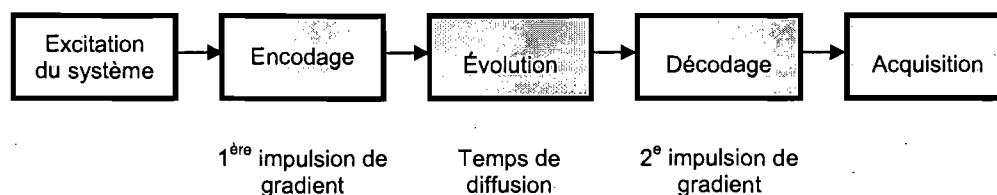


Figure 1.17. Représentation schématique des séquences RMN utilisées pour mesurer un coefficient de diffusion.

Lorsque Hahn développa la séquence d'écho de spin¹⁰⁶ pour la mesure du T_2 , il remarqua que l'inhomogénéité du champ magnétique s'accompagnait d'une diminution de l'amplitude de l'écho, qu'il associa entre autres à l'auto-diffusion des molécules dans l'échantillon. Par la suite, Carr et Purcell mesurèrent le coefficient d'auto-diffusion de l'eau en appliquant un gradient de champ magnétique connu.¹⁰⁷

Stejskal et Tanner⁹⁵ furent les premiers à utiliser l'impulsion de gradient de champ magnétique pour mesurer le coefficient d'auto-diffusion. L'utilisation de

gradient de champ statique présent même lors de l'acquisition, comme ce fut le cas lors des premières expériences d'auto-diffusion,¹⁰⁷ amène un élargissement du signal qui peut empêcher la détermination de plus d'un coefficient de diffusion simultanément.¹⁰⁸ Tel n'est pas le cas avec l'utilisation d'impulsions de gradient. Non seulement cette technique plus raffinée permet de connaître exactement le temps de diffusion et conséquemment d'étudier la diffusion restreinte, mais elle permet aussi de séparer les effets causés par la diffusion de ceux causés par la relaxation transversale.⁹⁵

La présence d'un gradient de champ magnétique (G) modifie la fréquence de précession du noyau qui variera selon la position du noyau dans l'espace.

$$\omega(z) = \gamma(B_0 + G_z z) \quad 1.13$$

Conséquemment, l'application d'une impulsion de gradient de champ magnétique pendant un intervalle de temps δ s'accompagnera d'un déphasage des spins qui s'accompagne d'une diminution du signal observé.

$$\phi(z) = \gamma \delta G_z z \quad 1.14$$

Après la perturbation du système par une impulsion de radio-fréquence à 90° qui place la magnétisation dans le plan xy avec tous les spins en phase cohérente, la diffusion est mesurée par l'application, d'une paire d'impulsions de gradients de champ magnétique séparée par une impulsion r.f. de 180° (ou une combinaison d'impulsions d'un total de 180°). L'impulsion de gradient produit une dépendance spatiale de l'angle de phase (équation 1.12). La différence de phase de la précession créée, la première impulsion de gradient sert à encoder la position des noyaux dans l'espace. Suite à l'impulsion r.f. de 180° (ou d'une série d'impulsions d'un total de 180°), l'application d'une seconde impulsion de gradient après une

période de diffusion Δ , permet d'analyser le mouvement des molécules. Grâce à l'impulsion à 180° , la direction du déphasage produit par la seconde impulsion de gradient est opposée à celle de la première impulsion de gradient de champ magnétique. En absence de diffusion, les noyaux subiront exactement le même gradient de champ magnétique ce qui permettra de retrouver la cohérence des spins. Cependant, si un noyau s'est déplacé selon l'axe où est appliqué le gradient, l'effet des deux gradients ne s'annulera pas parfaitement : un déphasage net du spin sera observé, ce qui s'accompagnera d'une diminution de la magnétisation selon l'axe où l'acquisition est effectuée. Plus les molécules diffusent rapidement, plus la différence nette de phase du noyau ayant diffusé sera importante et plus le signal sera atténué.¹⁰⁸

Dans l'écho de spin à gradient de champ pulsé,⁹⁵ l'atténuation du signal de l'écho est donnée par :

$$I_{2\tau} = I_0 e^{\frac{-2\tau}{T_2} - (\gamma\delta G)^2 D_s (\Delta - \delta/3)}$$
1.15

où $I_{2\tau}$ est le signal de l'écho, I_0 le signal qui serait obtenu directement après l'impulsion de 90° , τ le temps entre les impulsions de 90° et de 180° , T_2 le temps de relaxation transversal, γ le ratio gyromagnétique du noyau sous observation, δ la durée de l'impulsion de gradient, Δ le temps de diffusion, i.e., l'intervalle de temps entre les deux impulsions de gradient, G l'amplitude de l'impulsion de gradient et D_s le coefficient d'auto-diffusion. La répétition de l'expérience en variant l'amplitude du déphasage créé par l'impulsion de gradient, typiquement en faisant varier G , permet d'obtenir le coefficient de diffusion sans la détermination du temps de relaxation T_2 puisque ce dernier ne varie pas dans ces conditions.

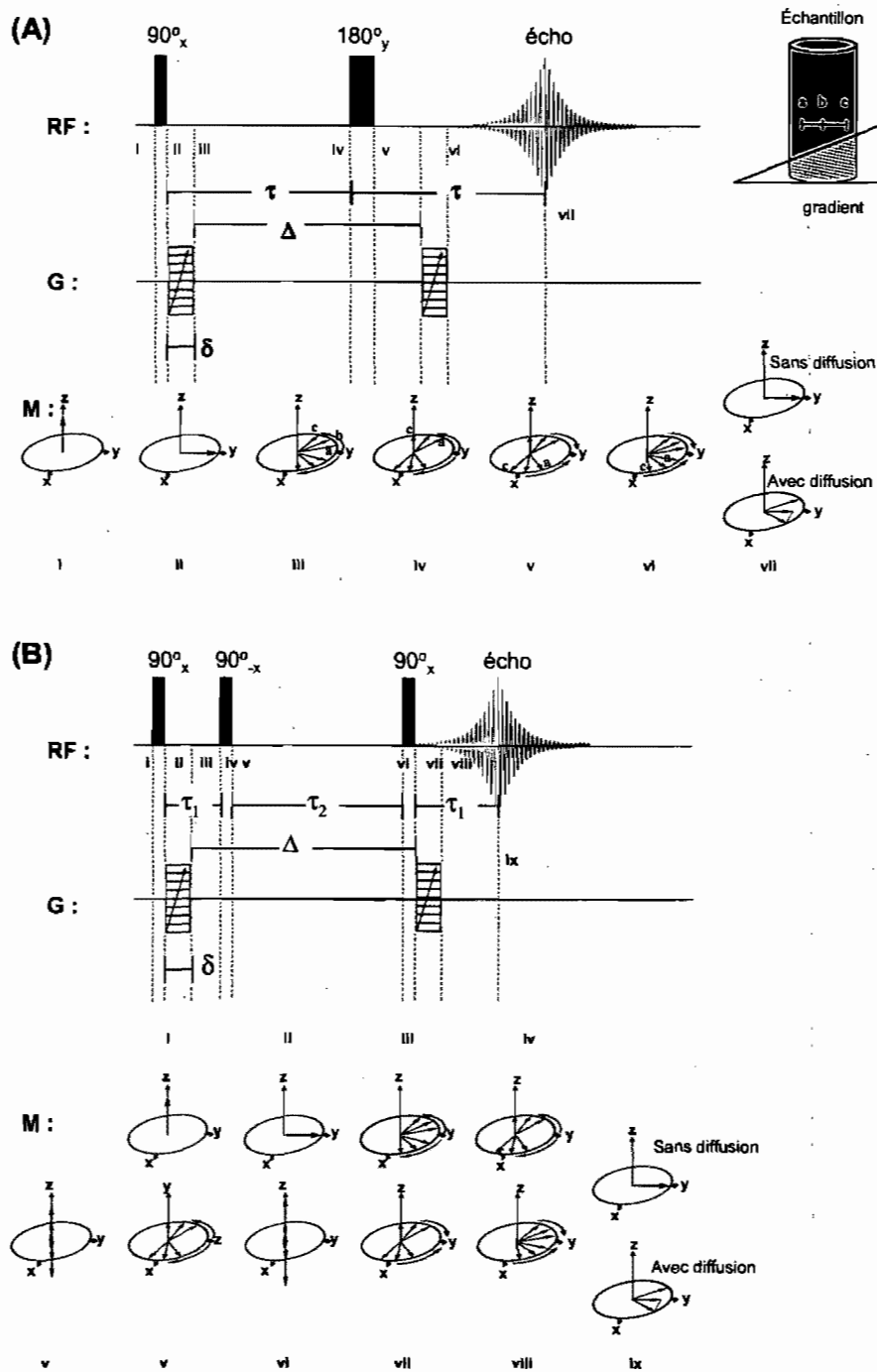


Figure 1.18. Séquences d'impulsions RMN menant à la mesure du coefficient d'autodiffusion. (A) Écho de spin à gradient de champ pulsé (PGSE).⁹⁵ (B) Écho stimulé (STE).⁹⁶ RF : impulsion de radiofréquence. G : Impulsion de gradient. M : évolution de la magnétisation dans la séquence d'impulsion.

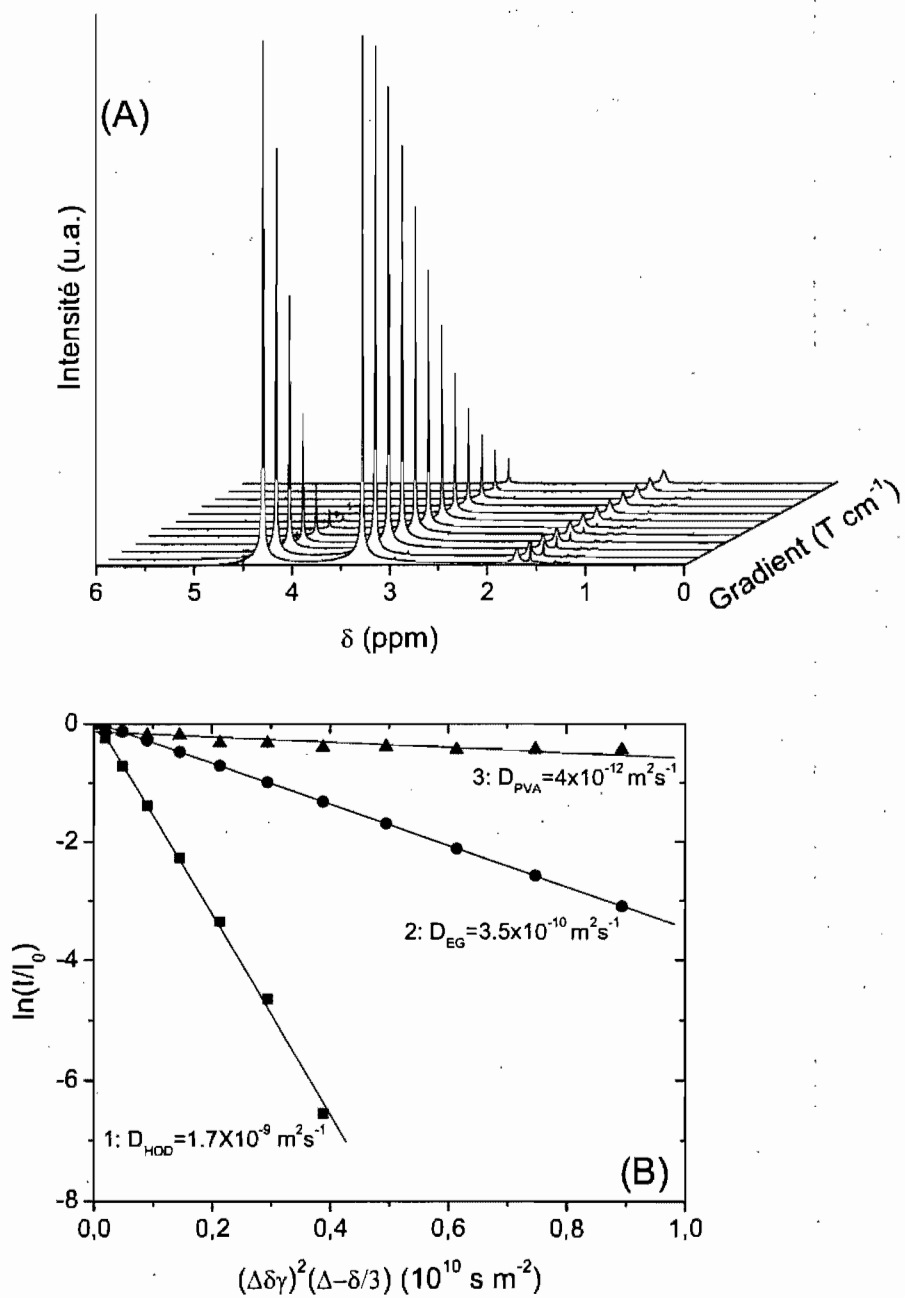


Figure 1.19. (A) Spectre RMN d'un dérivé d'éthylène glycol dans un gel de PVA dans l'eau deutérée à différentes intensités de l'impulsion de gradient. (B) Décroissance du signal de l'eau (1) (●), du dérivé de l'éthylène glycol (2) (■) et du PVA (3) (▲).

Lors de l'étude de l'auto-diffusion de macromolécules, l'utilisation de la séquence d'écho stimulé (Figure 1.18.B) est souvent préférée. Les macromolécules ont un temps de relaxation transversale (T_2) court ce qui crée, même en l'absence d'impulsions de gradient de champ magnétique, une décroissance importante de l'amplitude de l'écho. Dans la séquence d'écho stimulé, le système de spins perturbés évolue moins longtemps dans le plan xy où la perte de cohérence du signal résultant de la relaxation transversale est observée. Il est donc possible de cette manière d'étudier la diffusion de molécules ayant un T_2 court.⁹⁶ Dans ce cas, l'amplitude de l'écho est donné par :

$$I_{2\tau_1+\tau_2} = \frac{I_0}{2} e^{-\frac{2\tau_1}{T_2} - \frac{\tau_2}{T_1} (\gamma\delta G)^2 D_s (\Delta-\delta/3)} \quad 1.16$$

où τ_1 est l'intervalle de temps entre la première et la seconde impulsion de 90° , τ_2 l'intervalle de temps entre la seconde et la troisième impulsion de 90° et T_1 le temps de relaxation longitudinale.

Lorsqu'on étudie l'auto-diffusion de grosses molécules telles des polymères, certaines précautions doivent être prises afin de mesurer le déplacement translationnel réel de la molécule. Le temps de diffusion doit être suffisamment grand pour que la distance diffusée (équation 1.4) soit bien supérieure au rayon hydrodynamique de la molécule diffusante. Dans le cas contraire, il est possible que le déplacement mesuré soit relié non pas seulement à l'autodiffusion mais aussi à d'autres facteurs comme le déplacement d'un segment de chaîne par exemple.

1.3.2.1. Spectroscopie DOSY

La spectroscopie DOSY est basée sur les expériences de diffusion RMN à gradient de champ pulsé. Les spectres DOSY (Figure 1.20) sont une représentation bidimensionnelle des expériences de diffusion RMN.¹⁰⁹ La première dimension représente le déplacement chimique et la seconde le coefficient d'auto-diffusion. Ainsi, le DOSY d'un mélange permet de séparer la contribution de chacun des constituants tant selon leur spectre RMN respectif qu'en fonction de leur taille ou de leur environnement.¹¹⁰

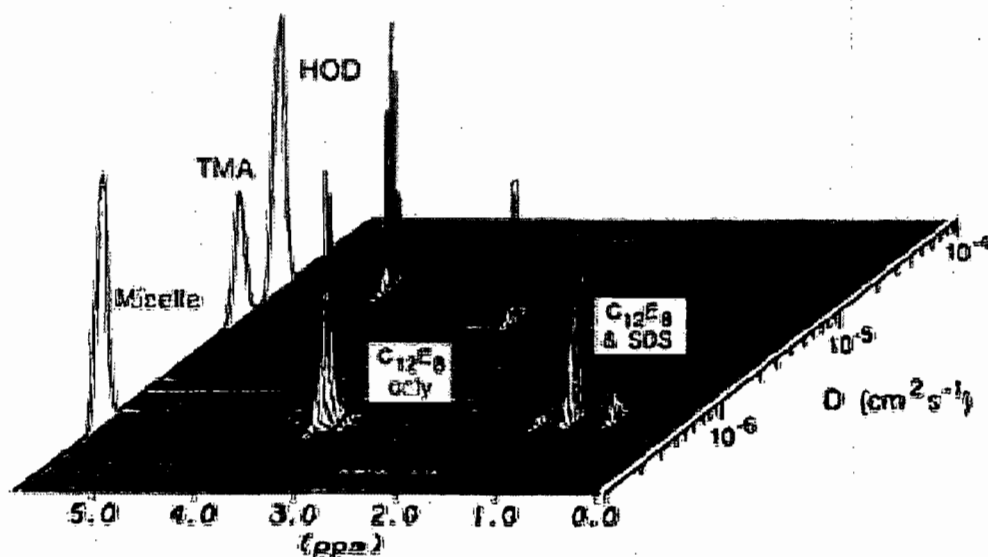


Figure 1.20. Spectre DOSY d'un mélange de chlorure de tétraméthylammonium et de dodécylsulfate de sodium dans l'eau.¹¹⁰

L'acquisition des données s'effectue avec les mêmes séquences d'impulsion que celles présentées pour la mesure du coefficient d'auto-diffusion, seul le

traitement des données diffère. L'intensité du signal RMN varie selon l'intensité des gradients appliqués et de la fréquence selon :

$$I(q, \nu) = A(\nu) e^{-Dq} \quad 1.17$$

où

$$q = (\gamma \delta G)^2 (\Delta - \delta/3) \quad 1.18$$

Dans plusieurs cas, tel l'exemple présenté à la Figure 1.20, seuls des coefficients d'auto-diffusion discrets, ou une sommation de n coefficients discrets, sont calculés avec l'équation 1.17. Dans ces cas, la largeur des pics dans la dimension des coefficients d'auto-diffusion est donnée par l'erreur type obtenue lors du calcul de D discret.¹¹⁰ Cependant, lorsque la diffusion ne peut plus être décrite par un ou une sommation de D discrets, mais uniquement par une distribution continue de D l'intensité du signal mesuré est donnée par :¹⁰⁹

$$I(q, \nu) = \int_0^{\infty} A(D, \nu) e^{-Dq} dD \quad 1.19$$

Où $A(D)$ est la distribution de coefficient de diffusion à une fréquence (ν) donnée.

L'intensité du signal mesuré s'exprime donc sous la forme d'une transformée de Laplace de q . Afin de calculer la fonction $A(D)$, il faut effectuer la transformée de Laplace inverse de $I(q)$.¹⁰⁹ Plusieurs outils mathématiques ont été développés pour résoudre ce type de système, qui se retrouve dans différentes problématiques tel que le calcul de durée de vie, le calcul de temps de relaxation, ou encore en diffusion de la lumière, dont les techniques de régularisation comme mises en œuvre dans le programme CONTIN¹¹¹⁻¹¹³ et la technique de l'entropie maximale.

La méthode de l'entropie maximale détermine la transformée de Laplace inverse la plus probable en maximisant l'entropie (S) de la distribution de coefficient d'auto-diffusion et en minimisant la distance, décrit par le χ^2 , entre les points expérimentaux (I_e) et la courbe calculée (I_c).

$$S = - \sum_{i=1}^n \frac{I_{c_i}}{\sum I_{c_i}} \ln \frac{I_{c_i}}{\sum I_{c_i}} \quad 1.20$$

$$\chi^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left(\frac{I_{c_i} - I_{e_i}}{\sigma_i} \right)^2 \quad 1.21$$

1.3.3. Imagerie RMN

L'utilisation de gradient de champs magnétiques permet de relier tant la fréquence de résonance que la phase à la position d'un noyau dans l'espace. Lauterbur est le premier à utiliser ce principe afin d'obtenir une image de l'intérieur d'un objet (Figure 1.21).¹¹⁷ L'équation 1.11 montre que l'application d'un gradient de champ magnétique fait varier la fréquence de résonance en fonction de la position du noyau dans l'espace. L'application d'un gradient lors de l'acquisition du signal permet d'encoder l'espace en fréquence afin d'obtenir un profil de l'échantillon selon l'axe où le gradient est appliqué (Figure 1.22). Lauterbur cartographie son échantillon en transformant l'information spectrale en information spatiale. Pour ce faire, il utilise un gradient de champ magnétique variant de façon linéaire et l'applique dans différentes orientations de façon à obtenir différents profils d'un même objet. Avec les projections de l'objet selon différents angles, il est possible de reconstruire l'image bidimensionnelle de l'objet de départ en utilisant les algorithmes de rétro-projection précédemment développés pour la tomographie de rayon-X.

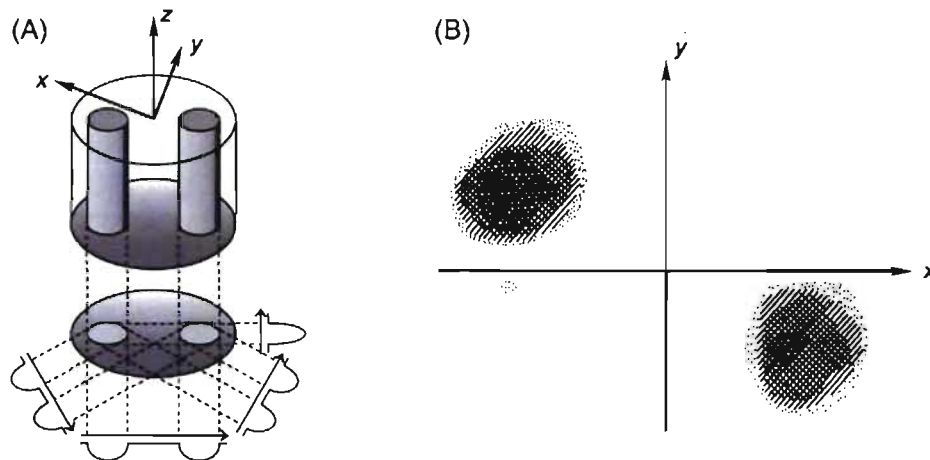


Figure 1.21. Expérience de Lauterbur afin de localiser deux tubes contenant de l'eau dans l'espace. (A) Obtention de quatre profils où l'angle d'application du gradient varie par incrément de 45° . (B) Image reconstruite avec ces profils.¹¹⁷

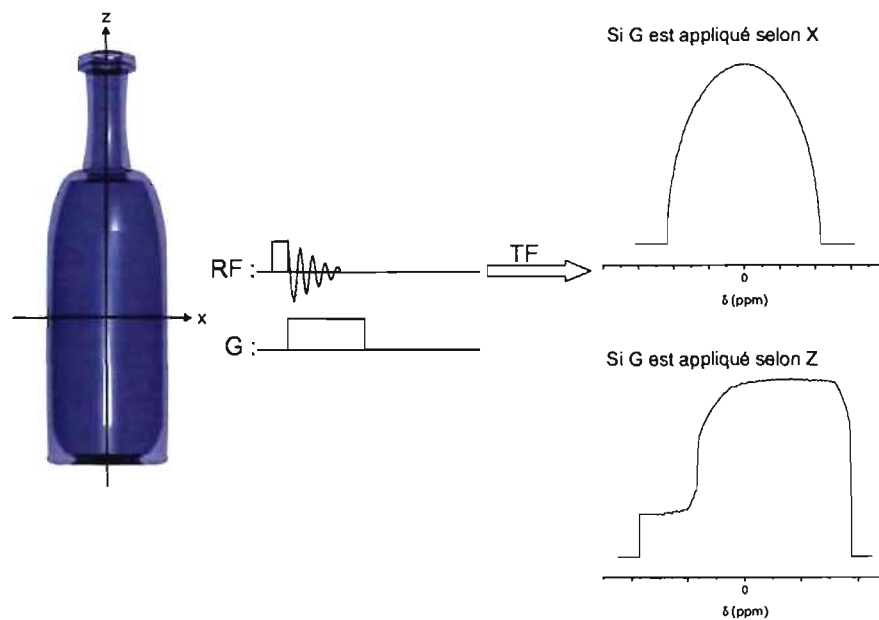


Figure 1.22. Obtention du profil d'une bouteille remplie d'eau par l'encodage de fréquences.

Par la suite, Mansfield introduisit une méthode permettant d'obtenir une troisième dimension pour les images obtenues par RMN : l'excitation sélective en présence d'un gradient de champ magnétique.¹¹⁸ Mansfield développa l'utilisation d'impulsions de forme contrôlée excitant seulement les noyaux ayant une fréquence de Larmor précise en opposition aux impulsions rectangulaires qui excitent une large gamme de fréquences. Les générateurs de radio-fréquences utilisés en RMN fonctionnent à une fréquence donnée ν_x . Lorsque le générateur de fréquence est mis en fonction sur une très courte période de temps, l'impulsion de radio-fréquences ne contient pas uniquement la fréquence ν_x , mais une distribution de fréquences dont le centre est ν_x , la largeur de cette distribution étant inversement proportionnelle à la durée de l'impulsion.¹⁰⁵ L'application d'impulsions de radio-fréquences de faible intensité ayant une durée plus longue et une forme modulée permet d'exciter une plus faible gamme de fréquences. Typiquement, les impulsions sélectives sont de forme sinus cardinal. L'application d'un gradient de champ magnétique, qui permet de varier la fréquence de Larmor selon la position dans l'espace, simultanément à une impulsion de radio-fréquence sélective, permet d'exciter seulement les noyaux contenus dans une tranche déterminée de l'échantillon.

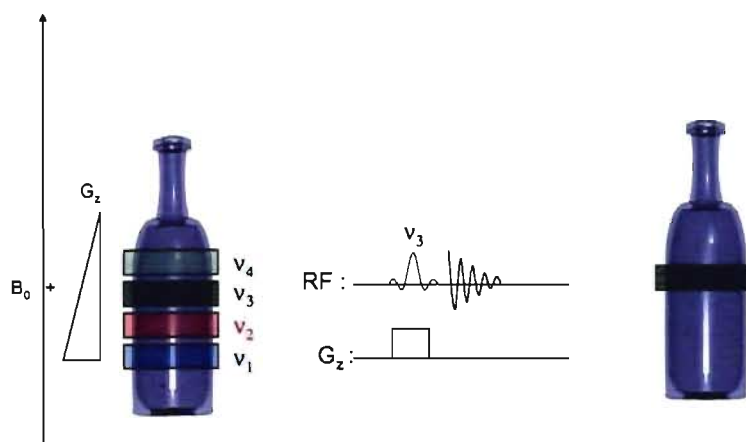


Figure 1.23. Sélection de tranche avec une excitation sélective en présence d'un gradient de champ magnétique.

La sélection de tranches peut être utilisée avec la méthode de reconstruction par rétro-projection de Lauterbur afin d'obtenir, à partir d'images bidimensionnelle de plusieurs tranches, l'obtention d'une image tridimensionnelle de l'objet étudié. La méthode de reconstruction par transformée de Fourier peut aussi être utilisée.¹¹⁹ Dans ce cas, l'acquisition de l'image bidimensionnelle est effectuée par un encodage de fréquences lors de l'acquisition pour obtenir un profil, et par un encodage de phase lors de l'évolution du système afin de relier la position spatiale des spins à leur phase par l'application de N gradients de champ magnétique orientés de façon orthogonale au gradient d'encodage de fréquence. La transformée de Fourier du signal dans une dimension donne N spectres du domaine des fréquences où l'intensité du signal est fonction de l'amplitude du gradient de phase utilisé pour la tranche. Une seconde transformée de Fourier selon l'amplitude du gradient de phase permet l'obtention de l'image bidimensionnelle.

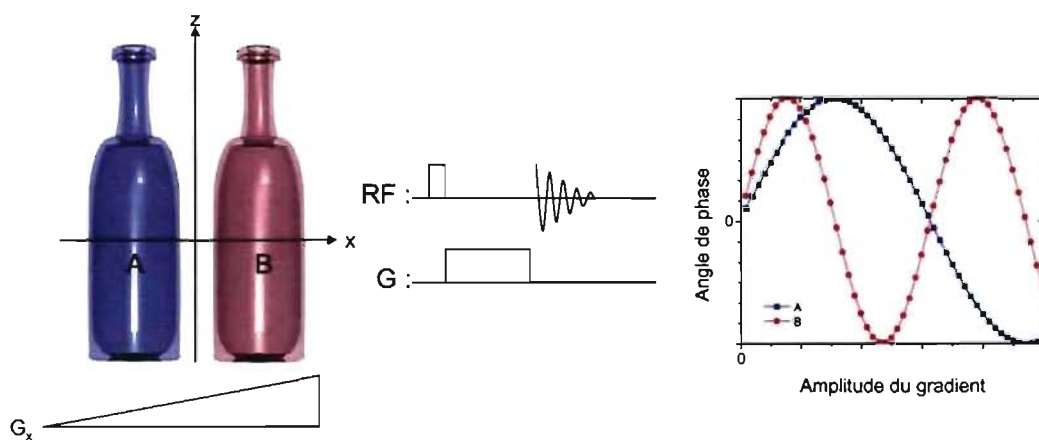


Figure 1.24. Encodage de phases par l'application d'un gradient de champ magnétique entre la perturbation initiale du système et l'acquisition du signal.

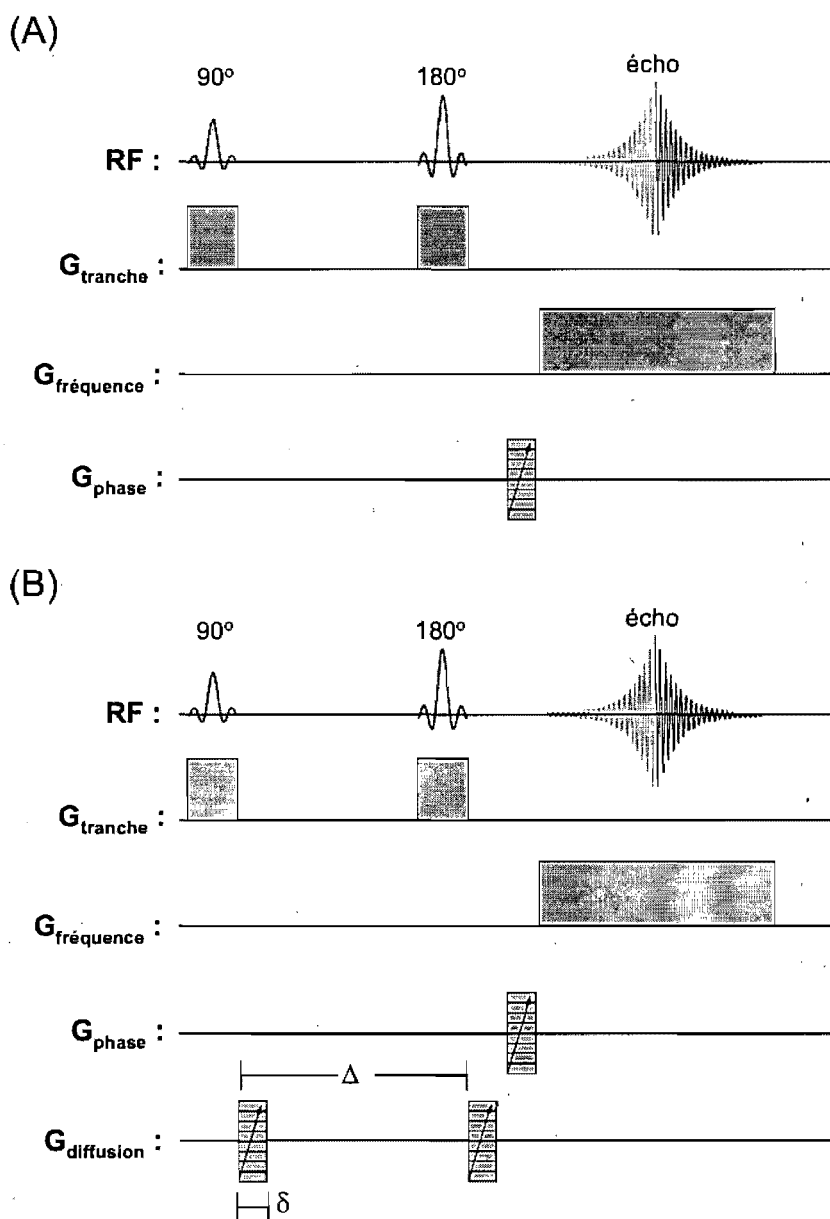


Figure 1.25. Séquences d'impulsions d'imagerie RMN utilisées aux chapitres 3 et 4. (A) Séquence d'écho de spin. (B) Écho de spin combiné avec diffusion PGSE. G_{tranche} : gradient de sélection de tranche. $G_{\text{fréquence}}$: gradient d'encodage de fréquences. G_{phase} : gradient d'encodage de phases. $G_{\text{diffusion}}$: gradient pour l'auto-diffusion. G_{tranche} et $G_{\text{fréquence}}$ sont appliqués dans des directions orthogonales, alors que $G_{\text{diffusion}}$ peut être appliqué selon l'une ou l'autre des directions.

L'utilisation de l'imagerie RMN par écho de spin permet d'obtenir une image où l'intensité du signal varie selon la densité de spin et le temps relaxation T_2 . Lorsque le temps d'écho est suffisamment court, il est possible de relier directement l'intensité du signal de l'image à la densité de spin, soit la concentration du noyau sous observation dans un élément de volume donné. Cependant, il est aussi possible de combiner l'imagerie par écho de spin avec les séquences d'impulsion utilisées pour l'étude de l'auto-diffusion. Dans ce cas, l'intensité du signal observé dépend de la densité de spin et du coefficient d'auto-diffusion. En répétant l'expérience avec différentes valeurs de gradient de diffusion, il est possible de reconstruire une image où le contraste est donné exclusivement par le coefficient d'auto-diffusion.

1.4. Problématiques étudiées

La vectorisation efficace des médicaments constitue toujours un des défis de taille auquel est confrontée l'industrie pharmaceutique, toujours hantée par le rêve du 'magic bullet'.¹²⁰ Or, le développement de vecteurs plus performants et mieux adaptés ne peut se faire sans une meilleure compréhension des propriétés physico-chimiques des vecteurs utilisés et sans une caractérisation fine de leur comportement en milieu aqueux et dans les fluides biologiques. Dans le relargage contrôlé de composés hydrosolubles, les propriétés des vecteurs utilisés jouent un rôle fondamental notamment par leurs caractéristiques d'hydratation associées à la formation d'un hydrogel qui limite la diffusion. Cette thèse aborde ces deux problématiques, d'abord une caractérisation du phénomène d'auto-diffusion dans des hydrogels polymères puis une analyse par imagerie RMN des caractéristiques de gonflement et d'hydratation de comprimés à base d'amidon réticulé.

1.4.1. Travaux antérieurs

L'étude du coefficient d'auto-diffusion par spectroscopie RMN dans les solutions et gels de polymères est maintenant courante.^{23, 121-126} Afin de mieux comprendre les facteurs influençant la diffusion, de nombreux paramètres ont été analysés. C'est ainsi qu'on comprend maintenant mieux le rôle joué par les groupements fonctionnels des petites molécules,¹²⁷ la concentration en polymères,^{29, 31-33, 127-131} la température^{31-33, 128} ou la taille des molécules.^{31-33, 128, 132} Ces expériences ont aussi permis de proposer de nouveaux modèles basés soit sur les théories d'obstruction, les théories du volume libre, les théories hydrodynamiques ou sur une combinaison de ces dernières. Ces modèles tiennent compte de façon plus efficace des différents paramètres affectant la diffusion.^{17, 19, 27, 29, 131}

Notre groupe de recherche a développé une expertise dans la diffusion de petites molécules et de macromolécules dans les hydrogels polymères, principalement ceux composés de poly(alcool vinylique) (PVA). Le PVA est, en effet, un bon système modèle d'hydrogel. D'une part, le PVA est approuvé par la FDA notamment pour la production de comprimés pharmaceutiques et de préparations ophtalmiques⁴⁴ et il est utilisé tant à des fins d'administration orale de médicaments¹³³ que pour le transport transdermique.¹³⁴ D'autre part, la structure chimique simple du PVA et la présence de groupements latéraux alcool secondaire permettent d'étudier distinctement l'influence de facteurs comme les interactions entre le polymère et le diffusant.^{135, 136} Les études menées avec le PVA dans notre laboratoire ont permis de définir un nouveau modèle, le modèle de Petit *et al.*,²⁹ basé à la fois sur la théorie d'échelle de de Gennes pour un réseau transitoire et sur la théorie hydrodynamique. En utilisant ce modèle, l'étude de l'auto-diffusion de l'éthylène glycol, d'oligo(éthylène glycol) et de leurs dérivés mono- et di-éther dans les gels de PVA a mis en évidence le rôle important joué par les ponts

hydrogène dans la diffusion.^{135, 136} L'étude de la diffusion de poly(éthylène glycol) de différentes architectures moléculaires (linéaire,³¹ dendritique³² et hyperbranchée³³) dans les hydrogels de PVA a, quant à elle, permis de mieux comprendre l'influence de la masse molaire et de la structure des molécules sur la diffusion.

Le comportement de différents systèmes de relargage^{137, 138} dont ceux à base d'amidon réticulé, excipient très intéressant pour le relargage prolongé de principes actifs, a été abondamment étudié. Les comprimés de CHAS ont été étudiés par différentes techniques telles que la spectroscopie RMN du ¹³C,^{82, 86, 88} l'analyse d'image,⁸⁹ la diffraction des rayons-X,^{82, 88} la microtomographie de rayons-X,⁹⁰ la microscopie électronique,^{82, 90} l'analyse mécanique¹³⁹ et l'imagerie RMN.^{140, 141} L'imagerie RMN a notamment été mise à profit afin de mieux comprendre le rôle de la température¹⁴⁰ et de la taille des comprimés¹⁴¹ sur la diffusion dans les comprimés d'amidon modifié (Figure 1.12).

1.4.2. Objectif de ce travail

L'effet des groupements fonctionnels des sondes diffusantes sur le coefficient d'auto-diffusion dans des hydrogels modèles a été observé antérieurement.^{127, 142} Le coefficient de diffusion est tout autant affecté par les interactions entre le diffusant et la matrice, variant selon le type de groupement fonctionnels, que par la taille et la structure même du diffusant. Des études antérieures ont aussi clairement démontré l'effet de la formation de ponts hydrogène entre le diffusant et la matrice sur la diminution du coefficient de diffusion de la sonde.^{136, 143} Ces analyses ont été réalisées soit par l'étude de la diffusion d'une série de molécules analogues pouvant interagir de façon plus ou moins importante avec une matrice donnée,¹³⁶ soit par l'étude de la diffusion d'une sonde donnée dans des matrices portant différents groupements fonctionnels.¹⁴³ Alors que d'abondantes recherches sont

disponibles sur l'effet des ponts hydrogène et autres interactions de type Van der Waals, l'effet des interactions ioniques résultats du pairage d'ions sur la diffusion n'a été que très peu étudié.

Afin de maximiser l'effet des groupements fonctionnels du diffusant, l'auto-diffusion de diffusants polyfonctionnels, des dendrimères portant des groupements terminaux acides carboxyliques (Figure 1.26), a été étudiée. La diffusion de ces dendrimères dans le poly(alcool vinylique) a été étudiée afin d'avoir un point de comparaison avec les PEG linéaires, hyperbranchés et dendritiques étudiés préalablement et ainsi permettre de décrire l'effet des groupements fonctionnels. La diffusion a aussi été étudiée dans la poly(allyl amine) afin de promouvoir la formation d'interactions ioniques entre les groupements acides du diffusant et des groupements amines de la matrice.

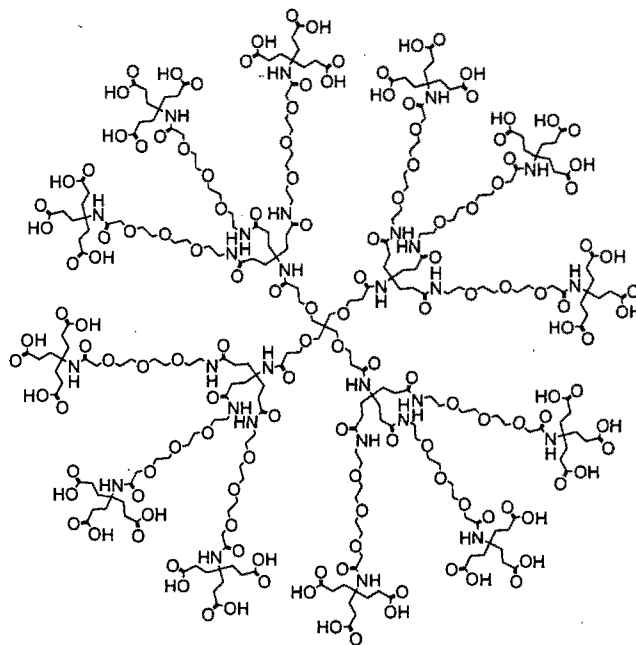


Figure 1.26. Structure d'un dendrimère étudié ayant des groupements terminaux acide carboxylique.

Le second axe exploré au cours de ce travail est l'étude de la diffusion dans des comprimés d'amidon réticulé. Préalablement, l'étude par imagerie RMN de comprimés fabriqués à base de ce type d'excipient a montré que la température a un effet sur la pénétration de l'eau et sur le gonflement de la matrice d'amidon,^{140, 141} une augmentation de la température entraînant un gonflement plus important et une augmentation de la vitesse de pénétration de l'eau. Alors que les études antérieures ne décrivaient la pénétration de l'eau que de manière qualitative,^{140, 141} une approche quantitative doit être appliquée afin de pouvoir mieux comparer et quantifier les variations observées. De plus, le relargage contrôlé de principes actifs par les comprimés faits à base de cet excipient a été attribué à la formation d'une couche de gel semi-perméable à l'interface comprimé/eau.⁸⁵ Afin de pouvoir mieux comprendre l'importance de cette couche de gel, la diffusion de l'eau et le gonflement des comprimés doit se faire à une température supérieure à la gamme de température étudiée précédemment. La formation de cette couche de gel est attribuée à la rétrogradation des chaînes d'amidon. En réalisant les expériences d'imagerie à une température égale ou supérieure à la température de gélatinisation de l'amidon, on inhibe la formation des structures de doubles hélices et donc la formation de la couche de gel telle qu'observée à plus basse température. Il devient ainsi possible de comprendre le rôle de cette couche de gel sur la diffusion de l'eau dans le comprimé et son gonflement.

La présence d'un principe actif dans un comprimé peut en modifier le comportement. L'imagerie RMN a été utilisée pour analyser ce phénomène dans divers types de comprimés utilisés pour le relargage prolongé de médicament, principalement des dérivés de cellulose dont l'hydroxypropylméthyl cellulose.^{144, 147} De plus, la diffusion de principes actifs dans des membranes d'amidon réticulé a aussi été étudiée,¹⁴⁸ de même que le relargage de principes actifs par des comprimés de type CHAS.^{72, 149, 150} L'imagerie RMN permet de mettre en relation le gonflement et la pénétration de l'eau dans le comprimé avec la cinétique de

relargage des principes actifs, en plus d'observer l'effet de la présence de différents principes actifs sur le gonflement et la pénétration de l'eau dans le comprimé. Deux principes actifs ont été ajoutés à la formulation des comprimés de CHAS, le ciprofloxacine et l'acétaminophène (Figure 1.27). Le ciprofloxacine est un antibiotique à large spectre qui inhibe la reproduction des bactéries.¹⁵¹ L'acétaminophène, quant à lui, est un analgésique qui inhibe la formation de prostaglandine.¹⁵² Ces deux molécules ont été sélectionnées sur la base de leurs solubilités (ciprofloxacine : 3.5 g/100 mL et acétaminophène : 1.4 g/100 mL) puisque ce facteur est connu pour influencer la vitesse de relargage.¹⁵³⁻¹⁵⁵

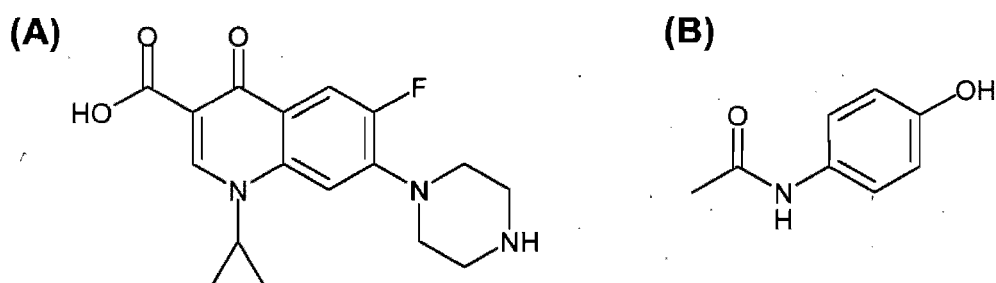


Figure 1.27. Principes actifs utilisés dans la formulation des comprimés de CHAS. (A) Ciprofloxacine. (B) Acétaminophène.

La formation de la couche de gel à l'interface comprimé/eau est attribuée à la rétrogradation de l'amidon ce qui mène à la formation de doubles hélices de type B. Ce phénomène peut être observé par spectroscopie RMN du ^{13}C à l'état solide.^{60, 66, 156} La spectroscopie RMN CP/MAS du ^{13}C a été utilisée avec succès pour observer le changement de conformation de l'amidon lors de l'hydratation des excipients d'amidon réticulé.^{82, 86, 88} Cependant, ces études ne sont que qualitatives. En réalisant les expériences de CP/MAS avec une série de temps de

transfert de polarisation, il est possible d'obtenir des informations quantitatives sur la proportion des chaînes d'amidon impliquées dans la formation de doubles hélices et sur la dynamique du réseau polymère.

1.4.3. Structure de ce travail

Le chapitre 2 présente une étude de l'auto-diffusion de polymères arborescents dans des solutions et gels de poly(alcool vinylique) (PVA) et de poly(allyl amine) (PAAm). La structure chimique des diffusants est composée de segments de tétra(éthylène glycol) ayant des groupements terminaux acides carboxyliques. Ce travail porte sur l'influence de la masse molaire, de la température, des groupements terminaux et des interactions avec le réseau polymère sur l'auto-diffusion. Les résultats dans ces deux systèmes polymères sont comparés sur la base du coefficient d'auto-diffusion, de la distribution de coefficient d'auto-diffusion et de l'énergie d'activation associée à la diffusion.

Le chapitre 3 porte sur l'étude du coefficient de diffusion de l'eau dans les comprimés d'amidon réticulé de type CHAS II (Figure 1.12) et sur l'effet de la température sur ce dernier. L'imagerie RMN est utilisée pour mesurer la concentration en ^1H à l'intérieur des comprimés. Le signal du ^1H étant proportionnel à la concentration en eau, il est possible d'appliquer la deuxième loi de Fick (équation 1.3) au profil de concentration en eau dans le comprimé afin d'obtenir le coefficient de diffusion de l'eau dans le comprimé. L'étude à différentes températures montre comment le comportement diffusif de l'eau est modifié aux environs de la température de gélatinisation de l'amidon.

Le chapitre 4 présente l'étude du coefficient de diffusion et d'auto-diffusion de l'eau dans des comprimés de CHAS II contenant 10 % p/p de principe actif (ciprofloxacine et acétaminophène). L'hydratation du comprimé mène à la

formation d'une couche de gel à l'interface entre le comprimé et l'eau et la formation de cette membrane s'accompagne d'une diminution du coefficient de diffusion de l'eau dans le comprimé. L'imagerie RMN avec le contraste donné par le coefficient d'auto-diffusion de l'eau permet de mieux observer la formation de cette membrane. L'imagerie RMN est aussi mise à profit pour mieux comprendre l'influence de la présence de principes actifs dans les comprimés tant sur le coefficient de diffusion de l'eau que sur la formation de la membrane.

Le chapitre 5 expose certaines des différences entre les comprimés de CHAS I et de CHAS II. Le contrôle du relargage des principes actifs par les comprimés de CHAS est attribué à la formation d'un gel à l'interface du comprimé. La formation de ce gel est en partie causée par la rétrogradation de l'amidon amorphe en structure de type B. La spectroscopie RMN du ^{13}C à l'état solide avec des temps de contacts variables est utilisée pour quantifier les changements conformationnels de l'amidon afin de mieux comprendre le comportement des deux types d'excipients.

1.5. Références

1. Nilsson, L.O., *Present Limitations of Models for Predicting Chloride Ingress into Reinforced Concrete Structures*. J. Phys. IV, **2006**. 136, 123-130.
2. Saleem, Q., Wildman, R.D., Huntley, J.M. et Whitworth, M.B., *Material Properties of Semi-Sweet Biscuits for Finite Element Modelling of Biscuit Cracking*. J. Food Eng., **2005**. 68, 19-32.
3. Kreuer, K.D., *On the Development of Proton Conducting Polymer Membranes for Hydrogen and Methanol Fuel Cells*. J. Membrane Sci., **2001**. 185, 29-39.
4. Tsushima, S., Teranishi, K., Nishida, K. et Hirai, S., *Water Content Distribution in a Polymer Electrolyte Membrane for Advanced Fuel Cell System with Liquid Water Supply*. Magn. Reson. Imaging, **2005**. 23, 255-258.

5. Williamson, A.W., *The Late Professor Graham*. Nature, **1869**. 1, 20-22.
6. Pourprix, B. et Locqueneux, R., *Thomas Graham (1805-1869)*. Fundamenta Scientiae, **1985**. 6, 179-207.
7. Pourprix, B. et Locqueneux, R., *Adolf Fick (1829-1901)*. Fundamenta Scientiae, **1987**. 8, 147-171.
8. Cussler, E.L., *Diffusion, Mass transfer in Fluid Systems*. 2nd ed. **1997**, Cambridge, Cambridge University Press. 580.
9. Brown, R., *A Brief Account of Microscopical Observations Made in the Months of June, July and August, 1827, on the Particles Contained in the Pollen of Plants; and on the General Existence of Active Molecules in Organic and Inorganic Bodies*. Philos. Mag., **1828**. 4, 161-173.
10. Einstein, A., *Zur Theorie der Brownschen Bewegung*. Ann. Phys., **1906**. 19, 371-381.
11. Einstein, A., *Über die von der Molekularkinetischen Theorie der Wärme Geforderte Bewegung von in Ruhenden Flüssigkeiten Suspendierten Teilchen*. Ann. Phys., **1905**. 17, 549-560.
12. Stokes, G.G., *On the Effect of the Internal Friction of Fluids on the Motion of Pendulums*. Trans. Cambridge Philo. Soc., **1856**. 9, 8-106.
13. Alfrey, T.J., Gurnee, E.F. et Lloyd, W.G., *Diffusion in Glassy Polymers*. J. Polym. Sci. Polym. Symp., **1966**. 12, 249-261.
14. Frisch, H.L., *Sorption and Transport in Glassy-Polymers*. Polym. Eng. Sci., **1980**. 20, 2-13.
15. Hopfenberg, H.B. et Frisch, H.L., *Transport of Organic Micromolecules in Amorphous Polymers*. J. Polym. Sci. Pol. Lett., **1969**. 7, 405-409.
16. Crank, J. et Park, G.S., *Diffusion in Polymers*. **1968**, London, Academic Press. 452.
17. Amsden, B., *Solute Diffusion within Hydrogels. Mechanisms and Models*. Macromolecules, **1998**. 31, 8382-8395.
18. Amsden, B., *Solute Diffusion in Hydrogels. An Examination of the Retardation Effect*. Polym. Gels Networks, **1998**. 6, 13-43.
19. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Physical Models of Diffusion for Polymer Solutions, Gels and Solids*. Prog. Polym. Sci., **1999**. 24, 731-775.

20. Fricke, H., *A Mathematical Treatment of the Electric Conductivity and Capacity of Disperse Systems. I. The Electric Conductivity of a Suspension of Homogeneous Spheroids*. Phys. Rev., **1924**. 24, 575-587.
21. Mackie, J.S. et Meares, P., *The Diffusion of Electrolytes in a Cation-Exchange Resin Membrane. I. Theoretical*. Proc. R. Soc. London, Ser. A, **1955**. 232, 498-509.
22. Brown, W. et Johnsen, R.M., *Transport from an Aqueous Phase Through Cellulosic Gels and Membranes*. J. Appl. Polym. Sci., **1981**. 26, 4135-4148.
23. Brown, W., Stilbs, P. et Lindstrom, T., *Self-Diffusion of Small Molecules in Cellulose Gels Using FT-Pulsed Field Gradient NMR*. J. Appl. Polym. Sci., **1984**. 29, 823-827.
24. Fujita, H., *Diffusion in Polymer-Diluent Systems*. Adv. Polym. Sci., **1961**. 3, 1-47.
25. Cohen, M.H. et Turnbull, D., *Molecular Transport in Liquids and Glasses*. J. Chem. Phys., **1959**. 31, 1164-1169.
26. Yasuda, H., Lamaze, C.E. et Ikenberry, L.D., *Permeability of Solutes Through Hydrated Polymer Membranes. I. Diffusion of Sodium Chloride*. Makromolekul. Chem., **1968**. 118, 19-35.
27. Cukier, R.I., *Diffusion of Brownian Spheres in Semidilute Polymer Solutions*. Macromolecules, **1984**. 17, 252-255.
28. Altenberger, A.R., Tirrell, M. et Dahler, J.S., *Hydrodynamic Screening and Particle Dynamics in Porous Media, Semidilute Polymer Solutions and Polymer Gels*. J. Chem. Phys., **1986**. 84, 5122-5130.
29. Petit, J.M., Roux, B., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *A New Physical Model for the Diffusion of Solvents and Solute Probes in Polymer Solutions*. Macromolecules, **1996**. 29, 6031-6036.
30. de Gennes, P.-G., *Scaling Concepts in Polymer Physics*. **1979**, Ithaca, Cornell University Press.
31. Masaro, L., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Self-Diffusion of Oligo- and Poly(ethylene glycol)s in Poly(vinyl alcohol) Aqueous Solutions As Studied by Pulsed-Gradient NMR Spectroscopy*. Macromolecules, **1998**. 31, 3880-3885.
32. Baille, W.E., Malveau, C., Zhu, X.X., Kim, Y.H. et Ford, W.T., *Self-Diffusion of Hydrophilic Poly(propyleneimine) Dendrimers in Poly(vinyl*

- alcohol) Solutions and Gels by Pulsed Field Gradient NMR Spectroscopy. Macromolecules, 2003. 36, 839-847.*
33. Baille, W.E., Zhu, X.X. et Fomine, S., *Study of Self-Diffusion of Hyperbranched Polyglycidols in Poly(vinyl-alcohol) Solutions and Gels by Pulsed-Field Gradient NMR Spectroscopy. Macromolecules, 2004. 37, 8569-8576.*
 34. Johnson, E.M., Berk, D.A., Jain, R.K. et Deen, W.M., *Hindered Diffusion in Agarose Gels: Test of Effective Medium Model. Biophys. J., 1996. 70, 1017-1023.*
 35. Park, K. et Mersny, R.J., *Controlled Drug Delivery: Designing Technologies for the Future. ACS Symp. Ser. 2000, New York, Oxford University Press. 459 pp.*
 36. Dong, L.C. et Hoffman, A.S., *A Novel-Approach for Preparation of pH-Sensitive Hydrogels for Enteric Drug Delivery. J. Controlled Release, 1991. 15, 141-152.*
 37. Chen, G.H. et Hoffman, A.S., *Graft-Copolymers that Exhibit Temperature-Induced Phase-Transitions over a Wide-Range of pH. Nature, 1995. 373, 49-52.*
 38. Zelikin, A.N., Quinn, J.F. et Caruso, F., *Disulfide Cross-Linked Polymer Capsules: En Route to Biodeconstructible Systems. Biomacromolecules, 2006. 7, 27-30.*
 39. Jeong, B., Kim, S.W. et Bae, Y.H., *Thermosensitive Sol-Gel Reversible Hydrogels. Adv. Drug. Deliver. Rev, 2002. 54, 37-51.*
 40. Yin, X., Hoffman, A.S. et Stayton, P.S., *Poly(N-isopropylacrylamide-co-propylacrylic acid) Copolymers That Respond Sharply to Temperature and pH. Biomacromolecules, 2006. 7, 1381-1385.*
 41. Jeong, B., Bae, Y.H., Lee, D.S. et Kim, S.W., *Biodegradable Block Copolymers as Injectable Drug-Delivery Systems. Nature, 1997. 388, 860-862.*
 42. Katdare, A. et Chaubal, M.V., *Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems. 2006, New York, Informa Healthcare. 452.*
 43. Weiner, M.L. et Kotkoskie, L.A., *Excipient Toxicity and Safety. 2000, New York, Marcel Dekker. 370.*
 44. Rowe, R.c., Sheskey, P.J. et Weller, P.J., *Handbook of Pharmaceutical Excipients. 4e ed. 2003, London, Pharmaceutical Press. 776.*

45. Hogan, J.E., *Hydroxypropyl Methyl Cellulose Sustained Release Technology*. Drug Dev. Ind. Pharm., **1989**. 15, 975-999.
46. Tahara, K., Yamamoto, K. et Nishihata, T., *Overall Mechanism Behind Matrix Sustained-Release (SR) Tablets Prepared with Hydroxypropyl Methyl Cellulose 2910*. J. Controlled Release, **1995**. 35, 59-66.
47. Robyt, J.F., *Essentials of Carbohydrate Chemistry*. **1998**, New York, Springer. 399.
48. Swarbrick, J. et Boylan, J.C., *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. 2e ed. **2002**, New York, Marcel Dekker. 3032.
49. Thibert, R. et Hancock, B.C., *Direct Visualization of Superdisintegrant Hydration Using Environmental Scanning Electron Microscopy*. J. Pharm. Sci., **1996**. 85, 1255-1258.
50. Mateescu, M.A., Lenaerts, V. et Dumoulin, Y., *Use of Crosslinked Amylose as a Matrix for Slow-Release Oral Pharmaceutical Compositions*. U.S. Patent 5,456,921, **1992**.
51. Dumoulin, Y., Carriere, F. et Ingenito, A., *Industrial Manufacture of Crosslinked Amylose in Aqueous Media, Useful as an Slow-Release Excipient*. Wo. Patent 98/35992, **1998**.
52. Lenaerts, V., Beck, R.H.F., Van Bogaert, E., Chouinard, F., Hopcke, R. et Desevaux, C., *Crosslinked High Amylose Starch Having Functional Groups as a Matrix for the Slow Release of Pharmaceutical Agents*. U.S. Patent 6,607,748, **2003**.
53. Tester, R.F., Karkalas, J. et Qi, X., *Starch-Composition, Fine Structure and Architecture*. J. Cereal Sci., **2004**. 39, 151-165.
54. Barsby, T.L., Donald, A.M. et Frazier, P.J., *Starch: Advances in Structure and Function*. **2001**, Cambridge, The Royal Society of Chemistry. 223.
55. Shi, Y.-C., Capitani, T., Trzasko, P. et Jeffcoat, R., *Molecular Structure of a Low-Amylopectin Starch and other High-Amylose Maize Starches*. J. Cereal Sci., **1998**. 27, 289-299.
56. Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V. et Ball, S., *Starch Granules: Structure and Biosynthesis*. Int. J. Biol. Macromol., **1998**. 23, 85-112.
57. Bogracheva, T.Y., Morris, V.J., Ring, S.G. et Hedley, C.L., *The Granular Structure of C-Type Pea Starch and its Role in Gelatinization*. Biopolymers, **1998**. 45, 323-332.

58. Whistler, R.L., BeMiller, J.N. et Paschall, E.F., *Starch : Chemistry and Technology*. 2nd ed. 1984, Orlando, Academic Press.
59. Bulpin, P.V., Welsh, E.J. et Morris, E.R., *Physical Characterization of Amylose-Fatty Acid Complexes in Starch Granules and in Solution*. *Starch*, 1982. 34, 335-339.
60. Gidley, M.J. et Bociek, S.M., ¹³C CP/MAS NMR Studies of Amylose Inclusion Complexes, Cyclodextrins, and the Amorphous Phase of Starch Granules: Relationships Between Glycosidic Linkage Conformation and Solid-State ¹³C Chemical Shifts. *J. Am. Chem. Soc.*, 1988. 110, 3820-3829.
61. Immel, S. et Lichtenthaler, F.W., *The Hydrophobic Topographies of Amylose and its Blue Iodine Complex*. *Starch*, 2000. 52, 1-8.
62. Wu, H.-C.H. et Sarko, A., *Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. VIII. The Double-Helical Molecular Structure of Crystalline B-Amylose*. *Carbohydr. Res.*, 1978. 61, 7-25.
63. Wu, H.-C.H. et Sarko, A., *Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. IX. The Double-Helical Molecular Structure of Crystalline A-Amylose*. *Carbohydr. Res.*, 1978. 61, 27-40.
64. Imberty, A., Chanzy, H., Perez, S., Buleon, A. et Tran, V., *The Double-Helical Nature of the Crystalline Part of A-Starch*. *J. Mol. Biol.*, 1988. 201, 365-378.
65. Imberty, A., Buleon, A., Vinh, T. et Perez, S., *Recent Advances in Knowledge of Starch Structure*. *Starch*, 1991. 43, 375-384.
66. Morgan, K.R., Furneaux, R.H. et Stanley, R.A., *Observation by Solid-State ¹³C CP MAS NMR Spectroscopy of the Transformations of Wheat Starch Associated With the Making and Staling of Bread*. *Carbohydr. Res.*, 1992. 235, 15-22.
67. Miles, M.J., Morris, V.J., Orford, P.D. et Ring, S.G., *The Roles of Amylose and Amylopectin in the Gelation and Retrogradation of Starch*. *Carbohydr. Res.*, 1985. 135, 271-281.
68. Gidley, M.J., *Molecular Mechanisms Underlying Amylose Aggregation and Gelation*. *Macromolecules*, 1989. 22, 351-358.
69. Case, S.E., Capitani, T., Whaley, J.K., Shi, Y.C., Trzasko, P., Jeffcoat, R. et Goldfarb, H.B., *Physical Properties and Gelation Behavior of a Low-Amylopectin Maize Starch and other High-Amylose Maize Starches*. *J. Cereal Sci.*, 1998. 27, 301-314.

70. Morrison, W.R., Tester, R.F. et Gidley, M.J., *Properties of Damaged Starch Granules. II. Crystallinity, Molecular Order and Gelatinization of Ball-Milled Starches*. J. Cereal Sci., **1994**. 19, 209-217.
71. Pope, D.G. et Royce, A.E., *Multilayer Drug Delivery Device with Alternate Layers of Drug in Swellable Material and Spacers, for Intermittent Delivery of Drugs*. EP Patent 246819, **1987**.
72. Lenaerts, V., Dumoulin, Y. et Mateescu, M.A., *Controlled Release of Theophylline from Crosslinked Amylose Tablets*. J. Controlled Release, **1991**. 15, 39-46.
73. Rudnic, E.M., McCarty, J.A. et Belenduik, G.W., *Sustained-Release Drug Delivery System Comprising a Highly Soluble Pharmaceuticals*. U.S. Patent 5,484,608, **1996**.
74. Te Wierik, G.H.P., Eissens, A.C., Bergsma, J., Arends-Scholte, A.W. et 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. Controlled Release, **1997**. 45, 25-33.
75. Chebli, C., Moussa, I., Buczkowski, S. et Cartilier, L., *Substituted Amylose as a Matrix for Sustained Drug Release*. Pharm. Res., **1999**. 16, 1436-1440.
76. Lefevre, P., Fuertes, P. et Quettier, C., *Excipients and Disintegrants Based on Starch and Their Manufacture*. EP Patent 1106646, **2001**.
77. Joensson, M., Gustavsson, N.O., Laakso, T. et Reslow, M., *Biodegradable Controlled Release Microparticles Containing Amylopectin-Based Starch of Reduced Molecular Weight*. Wo Patent 2002/028370, **2002**.
78. Lenaerts, V., Chouinard, F., Mateescu, M.A. et Ispas-Szabo, P., *Crosslinked High Amylose Starch Having Functional Groups as a Matrix for the Slow Release of Pharmaceutical Agents*. U.S. Patent 6,419,957, **2002**.
79. Zhang, Y., Xiao, C., Bindzus, W. et Green, V., *Tablet Excipient Based on Starch*. U.S. Patent 2006/008521, **2006**.
80. Cartilier, L., Ungur, M. et Chebli, C., *Tablet Formulation for Sustained Drug Release Comprising a Starch Derivative Matrix*. Wo Patent 2006/066399, **2006**.
81. Dumoulin, Y., Alex, S., Szabo, P., Cartilier, L. et Mateescu, M.A., *Crosslinked Amylose as Matrix for Drug Controlled Release. X-Ray and FT-IR Structural Analysis*. Carbohydr. Polym., **1998**. 37, 361-370.

82. Le Bail, P., Morin, F.G. et Marchessault, R.H., *Characterization of a Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. *Int. J. Biol. Macromol.*, **1999**. 26, 193-200.
83. O'Neil, M.J., *The Merck Index : an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 14 ed. **2006**, Whitehouse Station, NJ Merck & Co. 2564.
84. Jane, J., Xu, A., Radosavljevic, M. et Seib, P.A., *Location of Amylose in Normal Starch Granules. I. Susceptibility of Amylose and Amylopectin to Cross-Linking Reagents*. *Cereal Chem.*, **1992**. 69, 405-409.
85. Ravenelle, F. et Rahmouni, M., *Contramid: High-Amylose Starch for Controlled Drug Delivery*, in *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editors. **2006**, Oxford University Press, New York. p. 79-104.
86. Shiftan, D., Ravenelle, F., Mateescu, M.A. et Marchessault, R.H., *Change in the V/B Polymorph Ratio and T₁ Relaxation of Epichlorohydrin Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. *Starch*, **2000**. 52, 186-195.
87. Flory, P.J., *Principles of Polymer Chemistry*. **1953**, Ithaca, Cornell University Press. 672.
88. Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., Mateescu, M.A., Cartilier, L. et Marchessault, R.H., *Crosslinked High Amylose Starch for Controlled Release of Drugs: Recent Advances*. *J. Controlled Release*, **1998**. 53, 225-234.
89. Moussa, I.S. et Cartilier, L.H., *Characterization of Moving Fronts in Crosslinked Amylose Matrixes by Image Analysis*. *J. Controlled Release*, **1996**. 42, 47-55.
90. Chauve, G., Ravenelle, F. et Marchessault, R.H., *Comparative Imaging of a Slow-Release Starch Excipient Tablet : Evidence of Membrane Formation*. *Carbohydr. Polym.*, **2007**. 70, 61-67.
91. Weisenberger, L.A. et Koenig, J.L., *NMR Imaging of Case II Diffusion in Glassy Polymers*. *J. Polym. Sci. Pol. Lett.*, **1989**. 27, 55-57.
92. Weisenberger, L.A. et Koenig, J.L., *NMR Imaging of Solvent Diffusion in Polymers*. *Appl. Spectrosc.*, **1989**. 43, 1117-1126.
93. Kwak, S., Viet, M.T.P. et Lafleur, M., *Self- and Mutual-Diffusion Coefficients Measurements by ³¹P NMR 1D Profiling and PFG-SE in Dextran Gels*. *J. Magn. Reson.*, **2003**. 162, 198-205.
94. Chowdhury, M.A., Hill, D.J.T., Whittaker, A.K., Braden, M. et Patel, M.P., *NMR Imaging of the Diffusion of Water at 310 K into Semi-IPNs of PEM*

and Poly(HEMA-co-THFMA) with and without Chlorhexidine Diacetate. *Biomacromolecules*, **2004**. 5, 1405-1411.

95. Stejskal, E.O. et Tanner, J.E., *Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient*. *J. Chem. Phys.*, **1965**. 42, 288-292.
96. Tanner, J.E., *Use of the Stimulated Echo in NMR Diffusion Studies*. *J. Chem. Phys.*, **1970**. 52, 2523-2526.
97. Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Pulsed-Gradient Spin-Echo NMR Measurements of the Diffusion-Coefficients of Ketones in Poly(Methyl Methacrylate)*. *Macromolecules*, **1992**. 25, 4345-4351.
98. Lellig, C., Wagner, J., Hempelmann, R., Keller, S., Lumma, D. et Hartl, W., *Self-Diffusion of Rodlike and Spherical Particles in a Matrix of Charged Colloidal Spheres. A Comparison Between Fluorescence Recovery after Photobleaching and Fluorescence Correlation Spectroscopy*. *J. Chem. Phys.*, **2004**. 121, 7022-7029.
99. Cong, R., Temyanko, E. et Russo, P.S., *Diffusion of Labeled Polyelectrolyte Probes in Unlabeled Polyelectrolyte Matrix Solutions*. *Macromolecules*, **2005**. 38, 10627-10630.
100. Fatin-Rouge, N., Wilkinson, K.J. et Buffle, J., *Combining Small Angle Neutron Scattering (SANS) and Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) Measurements To Relate Diffusion in Agarose Gels to Structure*. *J. Phys. Chem. B*, **2006**. 110, 20133-20142.
101. Hassan, P.A. et Manohar, C., *Diffusion of Probe Particles in Surfactant Gels: Dynamic Light Scattering Study*. *J. Phys. Chem. B*, **1998**. 102, 7120-7125.
102. Phalakornkul, J.K., Gast, A.P. et Pecora, R., *Rotational and Translational Dynamics of Rodlike Polymers: A Combined Transient Electric Birefringence and Dynamic Light Scattering Study*. *Macromolecules*, **1999**. 32, 3122-3135.
103. Chatterjee, A., *Diffusion Studies of Bovine Serum Albumin with Jamin Interference Optics and Micro-Diffusion Cell*. *Nature*, **1962**. 194, 1053-1054.
104. Chi, S.C. et Jun, H.W., *Release Rates of Ketoprofen from Poloxamer Gels in a Membraneless Diffusion Cell*. *J. Pharm. Sci.*, **1991**. 80, 280-283.
105. Levitt, M., *Spin Dynamics : Basics of Nuclear Magnetic Resonance*. **2001**, Chichester, John Wiley & Sons. 686.

106. Hahn, E.L., *Spin Echoes*. Phys. Rev., **1950**. 80, 580.
107. Carr, H.Y. et Purcell, E.M., *Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments*. Phys. Rev., **1954**. 94, 630.
108. Price, W.S., *Pulsed-Field Gradient Nuclear Magnetic Resonance as a Tool for Studying Translational Diffusion: Part I. Basic Theory*. Concepts Magn. Reson., **1997**. 9, 299-336.
109. Johnson, C.S., Jr., *Diffusion Ordered Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Applications*. Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc., **1999**. 34, 203-256.
110. Morris, K.F. et Johnson, C.S., Jr., *Diffusion-Ordered Two-Dimensional Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. J. Am. Chem. Soc., **1992**. 114, 3139-3141.
111. Provencher, S.W., *A Constrain Regularization Methods For Inverting Data Represented by Linear Algebraic or Integral Equations*. Comput. Phys. Commun., **1982**. 27, 213-227.
112. Provencher, S.W., *CONTIN: a general Purpose Constrained Regularization Program for Inverting Noisy Linear Algebraic and Integral Equations*. Comput. Phys. Commun., **1982**. 27, 229-242.
113. Huo, R., Wehrens, R., Van Duynhoven, J. et Buydens, L.M.C., *Assessment of Techniques for DOSY NMR Data Processing*. Anal. Chim. Acta, **2003**. 490, 231-251.
114. Steinbach, P.J., *Two-Dimensional Distributions of Activation Enthalpy and Entropy from Kinetics by the Maximum Entropy Method*. Biophys. J., **1996**. 70, 1521-1528.
115. Steinbach, P.J., Ionescu, R. et Matthews, C.R., *Analysis of Kinetics Using a Hybrid Maximum-Entropy/Nonlinear-Least-Squares Method: Application to Protein Folding*. Biophys. J., **2002**. 82, 2244-2255.
116. Delsuc, M.A. et Malliavin, T.E., *Maximum Entropy Processing of DOSY NMR Spectra*. Anal. Chem., **1998**. 70, 2146-2148.
117. Lauterbur, P.C., *Image Formation by Induced Local Interactions. Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance*. Nature, **1973**. 242, 190-191.
118. Garroway, A.N., Grannell, P.K. et Mansfield, P., *Image Formation in NMR by a Selective Irradiative Process*. J. Phys. C: Solid State, **1974**. 7, L457-L462.

119. Edelstein, W.A., Hutchison, J.M., Johnson, G. et Redpath, T., *Spin Warp NMR Imaging and Applications to Human Whole-Body Imaging*. Phys. Med. Biol., **1980**. 25, 751-756.
120. Ehrlich, P., *Experimental Researches on Specific Therapeutics: On Immunity with Special Reference to the Relationship between Distribution and Action of Antigens*, dans *The Harben Lectures for 1907 of the Royal Institute of Public Health*. **1908**, Lewis, London. Reproduit dans : Ehrlich, P., *Collected Papers*. **1956**, New York, Pergamon Press.
121. Stilbs, P., *Fourier Transform Pulsed-Gradient Spin-Echo Studies of Molecular Diffusion*. Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc., **1987**. 19, 1-45.
122. Pickup, S. et Blum, F.D., *Self-Diffusion of Toluene in Polystyrene Solutions*. Macromolecules, **1989**. 22, 3961-3968.
123. Krykin, M.A., Volkov, V.I., Volkov, E.V., Surin, N.M., Ozerina, L.A., Muzafarov, A.M. et Ozerin, A.N., *Structure and Dynamics of Poly(carbosilane) Dendrimers as Revealed by Pulsed Field Gradient NMR Technique*. Appl. Magn. Reson., **2005**. 29, 459-469.
124. Cosgrove, T., Rodin, V., Murray, M. et Buscall, R., *Self-Diffusion in Solutions of Carboxylated Acrylic Polymers as Studied by Pulsed Field Gradient NMR. 2. Diffusion of Macromolecules*. J. Polym. Res., **2007**. 14, 175-180.
125. Cosgrove, T., Rodin, V., Murray, M. et Buscall, R., *Self-Diffusion in Solutions of Carboxylated Acrylic Polymers as Studied by Pulsed Field Gradient NMR. 1. Solvent Diffusion Studies*. J. Polym. Res., **2007**. 14, 167-174.
126. von Meerwall, E.D., Dirama, N. et Mattice, W.L., *Diffusion in Polyethylene Blends: Constraint Release and Entanglement Dilution*. Macromolecules, **2007**. 40, 3970-3976.
127. Petit, J.-M., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Solute Probe Diffusion in Aqueous Solutions of Poly(vinyl alcohol) as Studied by Pulsed-Gradient Spin-Echo NMR Spectroscopy*. Macromolecules, **1996**. 29, 70-76.
128. Kwak, S. et Lafleur, M., *Self-Diffusion of Macromolecules and Macroassemblies in Curdlan Gels as Examined by PFG-SE NMR Technique*. Colloids Surf., A, **2003**. 221, 231-242.
129. Colsenet, R., Söderman, O. et Mariette, F., *Effect of Casein Concentration in Suspensions and Gels on Poly(ethylene glycol)s NMR Self-Diffusion Measurements*. Macromolecules, **2005**. 38, 9171-9179.

130. Colsenet, R., Söderman, O. et Mariette, F., *Pulsed Field Gradient NMR Study of Poly(ethylene glycol) Diffusion in Whey Protein Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **2006**. 39, 1053-1059.
131. Zhang, Y. et Amsden, B.G., *Application of an Obstruction-Scaling Model To Diffusion of Vitamin B₁₂ and Proteins in Semidilute Alginate Solutions*. *Macromolecules*, **2006**. 39, 1073-1078.
132. Skirda, V.D., Aslanyan, I.Y., Philippova, O.E., Karybians, N.S. et Khokhlov, A.R., *Investigation of Translational Motion of Poly(ethylene glycol) Macromolecules in Poly(methacrylic acid) Hydrogels*. *Macromol. Chem. Phys.*, **1999**. 200, 2152-2159.
133. Carstensen, J.T., Marty, J.P., Puisieux, F. et Fessi, H., *Bonding Mechanisms and Hysteresis Areas in Compression Cycle Plots*. *J. Pharm. Sci.*, **1981**. 70, 222-223.
134. Wan, L.S.C. et Lim, L.Y., *Drug Release from Heat-Treated Poly(vinyl alcohol) Films*. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **1992**. 18, 1895-1906.
135. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Interaction of Ethylene Glycol with Poly(vinyl alcohol) in Aqueous Systems as Studied by NMR Spectroscopy*. *Langmuir*, **1999**. 15, 8356-8360.
136. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Self-Diffusion of End-Capped Oligo(ethylene glycol)s in Poly(vinyl alcohol) Aqueous Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **1999**. 32, 5383-5390.
137. Colombo, P., Bettini, R., Santi, P., De Ascentiis, A. et Peppas, N.A., *Analysis of the Swelling and Release Mechanisms from Drug Delivery Systems with Emphasis on Drug Solubility and Water Transport*. *J. Controlled Release*, **1996**. 39, 231-237.
138. Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R. et Peppas, N.A., *HPMC-Matrices for Controlled Drug Delivery: A New Model Combining Diffusion, Swelling, and Dissolution Mechanisms and Predicting the Release Kinetics*. *Pharm. Res.*, **1999**. 16, 1748-1756.
139. Ravenelle, F., Marchessault, R.H., Legare, A. et Buschmann, M.D., *Mechanical Properties and Structure of Swollen Crosslinked High Amylose Starch Tablets*. *Carbohydr. Polym.*, **2001**. 47, 259-266.
140. Baille, W.E., Malveau, C., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 1. Swelling and Water Uptake*. *Biomacromolecules*, **2002**. 3, 214-218.

141. Malveau, C., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 2. Effect of Tablet Size*. *Biomacromolecules*, **2002**. 3, 1249-1254.
142. Kwak, S. et Lafleur, M., *NMR Self-Diffusion of Molecular and Macromolecular Species in Dextran Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **2003**. 36, 3189-3195.
143. Lee, H. et Chang, T., *Hydrogen Bonding of Methyl Red to Poly(methyl methacrylate) and Poly(vinyl acetate) in Toluene Solution: a Diffusion, Binding, and Simulation Study*. *Macromolecules*, **2001**. 34, 937-941.
144. Fyfe, C.A. et Blazek, A.I., *Investigation of Hydrogel Formation from Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) by NMR Spectroscopy and NMR Imaging Techniques*. *Macromolecules*, **1997**. 30, 6230-6237.
145. Fyfe, C.A. et Blazek-Welsh, A.I., *Quantitative NMR Imaging Study of the Mechanism of Drug Release from Swelling Hydroxypropyl Me Cellulose Tablets*. *J. Controlled Release*, **2000**. 68, 313-333.
146. Tritt-Goc, J., Kowalczyk, J. et Pislewski, N., *Magnetic Resonance Imaging Study of the Transport Phenomena of Solvent into the Gel Layer of Hypromellose Matrices Containing Tetracycline Hydrochloride*. *J. Pharm. Pharmacol.*, **2003**. 55, 1487-1493.
147. Kowalczyk, J., Tritt-Goc, J. et Pislewski, N., *The Swelling Properties of Hydroxypropyl Methyl Cellulose Loaded with Tetracycline Hydrochloride: Magnetic Resonance Imaging Study*. *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, **2004**. 25, 35-41.
148. Rahmouni, M., Lenaerts, V. et Leroux, J.C., *Drug Permeation Through a Swollen Cross-Linked Amylose Starch Membrane*. *STP Pharma Sci.*, **2003**. 13, 341-348.
149. Desevaux, C., Dubreuil, P. et Lenaerts, V., *Characterization of Crosslinked High Amylose Starch Matrix Implants 1. In Vitro Release of Ciprofloxacin*. *J. Controlled Release*, **2002**. 82, 83-93.
150. Huneault, L.M., Lussier, B., Dubreuil, P., Chouinard, L. et Desevaux, C., *Prevention and Treatment of Experimental Osteomyelitis in Dogs with Ciprofloxacin-Loaded Crosslinked High Amylose Starch Implants*. *J. Orthop. Res.*, **2004**. 22, 1351-1357.
151. Kidwai, M., Misra, P. et Kumar, R., *The Fluorinated Quinolones*. *Curr. Pharm. Des.*, **1998**. 4, 101-118.
152. Aronoff David, M., Oates John, A. et Boutaud, O., *New Insights into the Mechanism of Action of Acetaminophen: Its Clinical Pharmacologic*

Characteristics Reflect its Inhibition of the Two Prostaglandin H2 Synthases. Clin. Pharmacol. Ther., **2006**. 79, 9-19.

153. Fu, X.C., Wang, G.P., Liang, W.Q. et Chow, M.S.S., *Prediction of Drug Release from HPMC Matrices: Effect of Physicochemical Properties of Drug and Polymer Concentration.* J. Controlled Release, **2004**. 95, 209-216.
154. Kiortsis, S., Kachrimanis, K., Broussali, T. et Malamataris, S., *Drug Release From Tableted Wet Granulations Comprising Cellulosic (HPMC or HPC) and Hydrophobic Component.* Eur. J. Pharm. Biopharm., **2005**. 59, 73-83.
155. Borgquist, P., Koerner, A., Piculell, L., Larsson, A. et Axelsson, A., *A Model for the Drug Release from a Polymer Matrix Tablet : Effects of Swelling and Dissolution.* J. Controlled Release, **2006**. 113, 216-225.
156. Veregin, R.P., Fyfe, C.A., Marchessault, R.H. et Taylor, M.G., *Characterization of the Crystalline A and B Starch Polymorphs and Investigation of Starch Crystallization by High-Resolution ¹³C CP/MAS NMR.* Macromolecules, **1986**. 19, 1030-1034.

Chapitre 2 : Effets des interactions ioniques sur l'auto-diffusion de dendrimères*

Pulsed gradient NMR techniques including diffusion-ordered NMR spectroscopy have been used to study the self-diffusion of three carboxylated dendrimers in aqueous solutions of neutral poly(vinyl alcohol) (PVA) and of cationic poly(allyl amine) (PAAm). The ionic interaction between the cationic PAAm network and the anionic dendrimers had the most significant effect on the diffusion of the dendrimers in the system. The self-diffusion coefficients of the dendrimers in PAAm were an order of magnitude lower than in PVA and more widely distributed, and the activation energy for the displacement of the dendrimers in PAAm was higher than that in PVA. The effects of the dendrimer size, polymer concentration, and temperature on the diffusion of the dendrimers have also been studied.

2.1. Introduction

Diffusion in polymeric systems is an important issue for processes such as mass transport of plasticizers or controlled release of drugs. The diffusion of various molecules in polymeric hydrogels has been studied,^{1, 2} and much has been understood on the effects of the size³⁻¹⁰ and shape^{7, 8} of the diffusant, the

* Thérien-Aubin, H., Zhu, X. X., Moorefield, C. N., Kotta, K. et Newkome, G. R., *Effect of Ionic Binding on the Self-Diffusion of Anionic Dendrimers and Hydrophilic Polymers in Aqueous Systems as Studied by Pulsed Gradient NMR Techniques*, *Macromolecules*, **2007**, 40, 3644-3649.

concentration of the polymer matrix,³⁻¹¹ and the temperature⁵⁻⁸ on the diffusion process. Physical models taking these factors into account have been established.^{4, 12-14} However, various interactions between the diffusant and the matrix make the diffusion process more complex, and a better understanding of the effects of such interactions is essential in the development of more efficient polymer systems for different applications. Previously we have studied the self-diffusion of a variety of diffusants ranging from small molecules to polymers in polymer solutions.^{3-5, 7, 8} The study of small diffusants bearing various functional groups such as alcohol, amine, or acid in PVA³ showed that the self-diffusion coefficient of these molecules was mainly influenced by the size of the molecule and that the functional groups had only a small effect. The study of polymers of the same composition but with diverse molecular architectures such as linear, hyperbranched and dendritic polymers showed that for molecules of the same molecular weight, the energy of activation of diffusion was related to the molecular architecture of the diffusing probe⁸ and that a diffusant with a more compact molecular structure had a lower activation energy.

The presence of intramolecular interaction such as hydrogen bonding^{15, 16} significantly influences the diffusion process. The nature of the polymer matrix has a large effect on the hydrogen bonding between the polymer and diffusant as observed for methyl red in poly(methyl methacrylate) and poly(vinyl acetate).¹⁷ The ionic interactions also influence the diffusion process. The study of self-diffusion of butyrate in polyacrylamide gels showed that the self-diffusion coefficient was affected by the diffusant-diffusant interactions; the self-diffusion of the butyrate anions was strongly dependent on the butyrate concentration.¹⁸ The electrostatic interactions between a charged polymer and charged diffusing probes can be completely screened in a solution of high ionic strength.¹¹ To the best of our knowledge, the effect of ion-pairing interactions on the self-diffusion process has never been studied in detail.

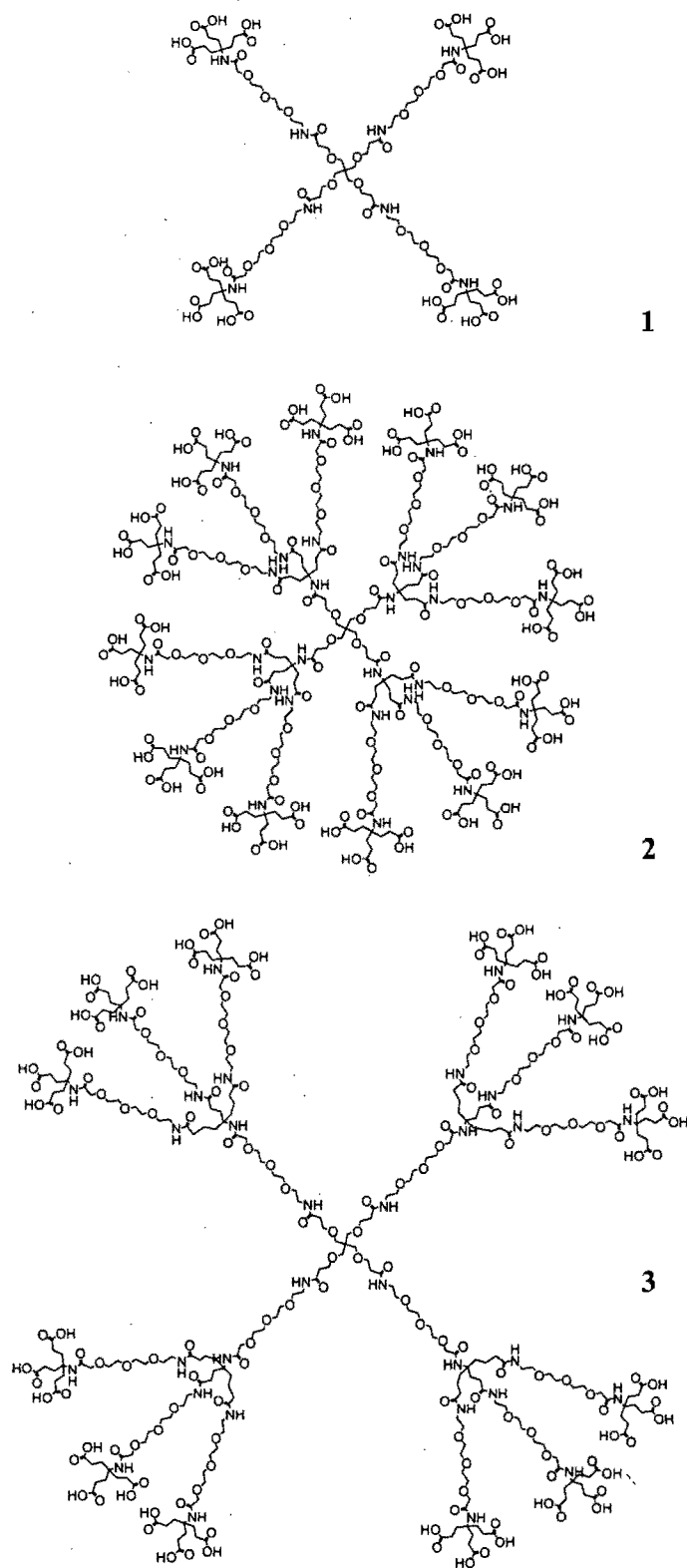


Figure 2.1. Chemical structures of the dendritic probes used in this study.

The diffusion of molecules with a dendritic structure is of interest because of their potential use as carriers for various reactants and drugs. Recent studies have shown the discrepancy in the diffusion of dendrimers in comparison to that of linear polymers.⁷ Dendrimers with a more compact structure can diffuse faster than linear polymers of a similar molar mass. However, the influence of the end groups of a diffusing dendrimer and of their interactions with the surrounding environment on the self-diffusion coefficient and the activation energy of this process have not yet been addressed. We report here a study of the effect of ionic interactions as well as the temperature dependence of the self-diffusion of dendritic probes bearing carboxylic acid end groups in matrices composed of neutral and basic hydrophilic polymers.

2.2. Experimental Section

2.2.1. Materials.

Poly(vinyl alcohol) (PVA, MW = 89-98 000, 99% hydrolyzed), poly(allyl amine) (PAAm, MW = 70 000) and deuterium oxide (D₂O) were purchased from Aldrich (Milwaukee, WI). The dendritic diffusants **1**, **2** and **3** (Figure 2.1) were synthesized as described in previous reports.^{19,20}

2.2.2. Sample Preparation.

The NMR samples were prepared by adding a D₂O solution containing 1 wt% of a diffusing probe to the polymer weighed in a 5 mm NMR tube. The final concentrations of the polymer ranged from 0 to 0.25 g·mL⁻¹. The PVA samples were sealed and heated for 24 h at 110°C, while the PAAm samples were heated at 50°C.

2.2.3. NMR Measurements of Self-diffusion Coefficients.

The stimulated echo pulse sequence developed by Tanner²¹ (STE: 90° - t_1 - 90° - t_2 - 90° - t_1 -echo) was used to measure the self-diffusion coefficients (D) of the diffusing probes. Measurements were performed at 25.0°C on a wide-bore Bruker Avance-400 NMR spectrometer operating at a frequency of 400.26 MHz for protons. The interval between the gradient pulses was fixed to 100 ms, the duration of the gradient pulse was set at 1 ms for the PVA samples and the PAAM solutions and at 2 ms for the more concentrated PAAM systems. The gradient strength was varied in 32 gradient steps within a range from 0.1 to 10 T/m (the minimum and maximum varied depending on the system studied) to achieve an attenuation of at least 80% for the diffusants. Selected experiments for variable temperature studies were performed at 15.0, 25.0, 35.0 and 45.0 °C ($\pm 0.3^\circ\text{C}$). Temperature was calibrated with pure ethylene glycol.²²

2.2.4. DOSY Experiments.

DOSY is a 2D NMR experiment in which the chemical shift represents one dimension and the self-diffusion coefficient the other.²³ DOSY spectra were obtained for selected STE diffusion experiments by performing inverse Laplace transform using the maximum entropy method²⁴ on each data point in the chemical shift dimension between 1.0 and 4.5 ppm.

2.3. Theoretical Background

The self-diffusion coefficients were obtained from the attenuation of the NMR signals caused by the application of gradient pulses²¹

$$A = A_0 e^{-\gamma^2 \delta^2 G^2 D (\Delta - \delta/3)} \quad 2.1$$

where A_0 and A are the NMR signals in the absence and in the presence of the gradient pulses of strength G and of a duration δ , Δ is the interval between the two gradient pulses and γ the gyromagnetic ratio of the nucleus under investigation, ^1H in this case.

Equation 2.1 holds for a simple unhindered Brownian motion. If the system is polydisperse or inhomogeneous, a distribution of diffusion coefficients may be observed. The same effect can be observed if there is a slow exchange on the NMR time scale between different populations of the same molecules or if the movement or the Brownian motion of the molecules is hindered.^{25, 26} In these cases, the attenuation of the NMR signal follows

$$A = A_0 \int f(D) e^{-\gamma^2 \delta^2 G^2 D (\Delta - \delta/3)} dD \quad 2.2$$

where $f(D)$ is the distribution function of D .

To solve eq 2.2, an inverse Laplace transform should be performed on the system. There are different algorithms that could be used to solve this equation such as the methods based on a regularization technique²⁷⁻³⁰ including CONTIN^{27, 28, 31} or based on the maximum entropy method.^{24, 32} One can also use a stretched exponential solution^{26, 33} in the form of the Kohlrausch-Williams-Watts (KWW) equation^{25, 26, 34, 35} to take into account the distribution of the diffusion coefficients

$$A = A_0 e^{-(qD_{app})^\alpha} \quad 2.3$$

where α is the stretching factor of the exponential function represents the distribution of the self-diffusion coefficients ($0 < \alpha \leq 1$), and $q = \gamma^2 \delta^2 G^2 (\Delta - \delta/3)$

When $\alpha = 1$, eq 2.3 simplifies into eq 2.1. The smaller the α value is, the broader the distribution of D would be. A mean diffusion coefficient (\bar{D}) can be calculated from the values of D_{app} and α by

$$\bar{D} = \frac{\alpha D_{app}}{\Gamma(\alpha^{-1})} \quad 2.4$$

where $\Gamma(x)$ is the gamma function. Typical fits of the attenuation of the NMR signals by the KWW equation and the inverse Laplace transform are shown in Figure 2.2.

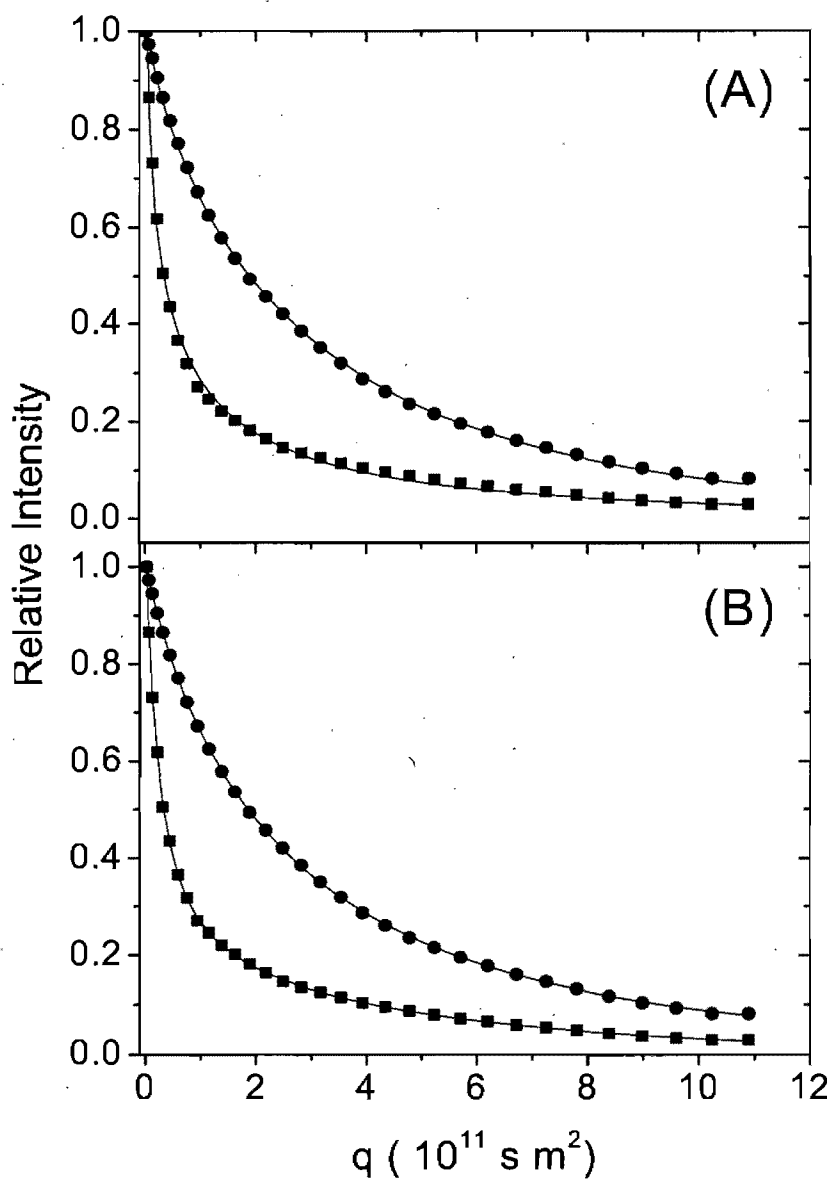


Figure 2.2. Attenuation of the NMR signals of dendrimer 2 (■) and PAAm (●) with the increasing pulsed gradient strength for a polymer (PAAm)-diffusant (dendrimer 2)-water ternary system at 25°C ([PAAm] = 0.15 g·mL⁻¹). Experimental data points (relative signal intensity) fitted by (A) the Kohlrausch-Williams-Watts equation and (B) the inverse Laplace transform.

2.4. Results and Discussion

2.4.1. Self-Diffusion of the Dendrimers in PAAm and PVA.

The effects of polymer concentration and molecular size on the self-diffusion coefficients of diffusant probes in polymer systems are well-known.^{4, 36} When the self-diffusion coefficient D is divided by the self-diffusion coefficient in the absence of the polymer (D_0), the D/D_0 value (also known as reduced or normalized self-diffusion coefficient) is related to the specific interactions between the polymer network and the molecular probes.³⁷ In fact, Figure 2.3 shows that the self-diffusion coefficients of all three dendritic diffusants **1**, **2**, and **3** all exhibit similar behavior and trends as a function of polymer concentration. The most significant difference is in their D_0 values (Figure 2.3). The differences between the D/D_0 values are rather small (Figure 2.3B), but these values for dendrimer **1** are consistently lower. This will be further discussed later. The increase in the viscosity of the polymer solutions as a function of concentration is also shown in Figure 2.3A.

If the self-diffusion data of the ionic dendrimers are compared in the two polymers, a significant difference is observed. Only the data for **1** are shown in Figure 2.4, but the self-diffusion coefficients for each of the dendritic probes **1**, **2**, and **3** in PAAm-water systems are about an order of magnitude lower than those of the same molecules in PVA. It is clear that the diffusion behavior of these probes in PAAm is also more complex than in PVA.

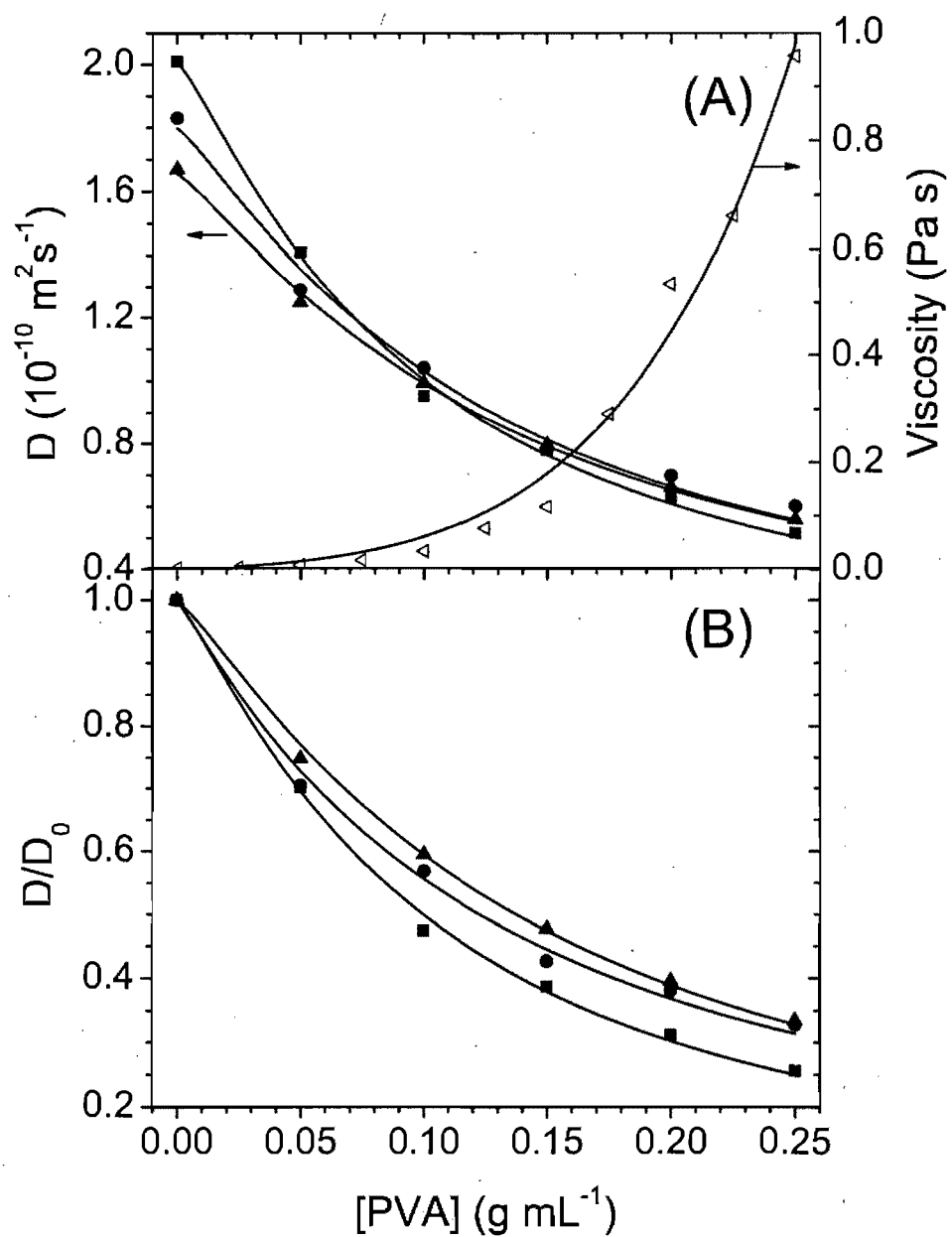


Figure 2.3. Variation of (A) the self-diffusion coefficient of the probe and the viscosity of the solution and (B) the reduced self-diffusion coefficient of the diffusants as a function of the PVA concentration in water at 25°C. Dendritic diffusants: (■) 1; (●) 2; (▲) 3.

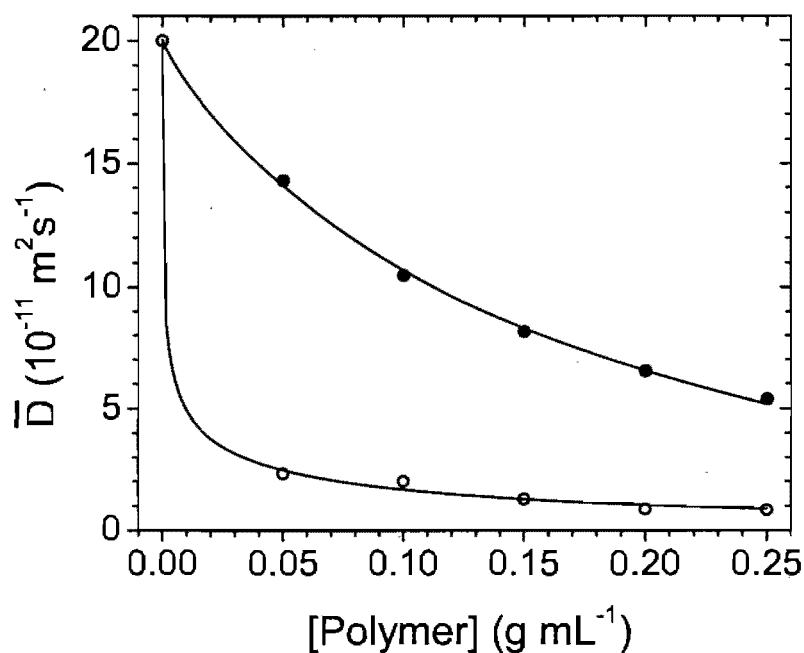


Figure 2.4. Self-diffusion coefficient of dendrimer 1 as a function of polymer concentration in the systems of PVA (●) and PAAm (○).

Equation 2.1 or even a two-component biexponential decay function cannot be used to determine the diffusion coefficient of the dendritic probes in the PAAm systems, since there is a large distribution of diffusion coefficients in the PAAm systems. Equation 2.3 is used to calculate the apparent diffusion coefficients (Table 2.1). As expected, the self-diffusion coefficient of the dendritic probes decreased with increasing PAAm concentration, but the PAAm concentration has a larger influence on the self-diffusion coefficient than that of PVA. The distribution of self-diffusion coefficients of the dendrimers also becomes wider (as indicated by a smaller α value) with increasing PAAm concentration (between 0.05 and 0.15 g·mL⁻¹), indicating an increasingly more complex system, until an entangled network is formed at a higher concentration, after which the average D and the distribution of D do not vary significantly. The critical overlap

concentration (c^*)³⁸ was measured by rheology to be at ca. $0.09 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ from the concentration dependence of the zero-shear rate viscosity of the polymer solution. At polymer concentrations higher than c^* , entanglements exist between polymer chains in the solution, leading to the formation of a dynamic three-dimensional network.

Table 2.1. Apparent self-diffusion coefficient (D_{app}) and the width of the distribution (α) of the anionic dendritic probes in polymer systems (obtained from eq 2.3).

Diffusant	[Polymer] ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	T ($^{\circ}\text{C}$)	PVA		PAAm	
			D_{app} ($10^{-11} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$)	α	D_{app} ($10^{-11} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$)	α
1	0.00	25.0	20.0	0.97	20.0	0.97
	0.05	25.0	14.3	0.95	2.33	0.71
	0.10	25.0	10.5	0.90	2.02	0.33
	0.15	25.0	8.17	0.91	1.29	0.27
	0.20	25.0	6.53	0.94	0.87	0.28
	0.25	25.0	5.38	0.95	0.84	0.30
	0.15	15.0	6.00	1.00	0.89	0.28
	0.15	35.0	10.3	0.97	1.50	0.32
	0.15	45.0	13.7	0.99	2.17	0.37
2	0.15	25.0	8.01	0.92	1.96	0.38
3	0.15	25.0	7.77	0.95	1.11	0.31

2.4.2. DOSY Experiments.

Molecular interactions between the diffusant and the polymer affect the diffusion of the different molecular species in the system. It is obvious from Figure 2.5 that the ionic binding has a more significant effect than hydrogen binding in the aqueous polymer systems. The distribution of the self-diffusion coefficients of the dendrimers and of the polymers can be better illustrated by the DOSY experiments, which allows the screening of a mixture on the basis of both chemical shift and self-diffusion coefficient. It is a powerful tool in the study of complex mixtures.²³ Figure 2.5 shows an example of the DOSY spectra of dendrimer **2** in the two polymer matrices at a polymer concentration of $0.15 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$. In the PVA system (Figure 2.5A), the broad peaks of PVA are observed at 4.0 (CH) and 1.6 (CH₂) ppm. The peak at 3.7 ppm is attributed to OCH₂ protons of the ethylene glycol chains of the dendrimer. A sharp peak in the diffusion dimension is observed as expected for group undergoing unhindered Brownian motion. Figure 2.5A shows that the self-diffusion of the dendrimer **2** in PVA is relatively simple whereas that of the polymer is more complicated due to the extensive formation of intermolecular hydrogen bonding between PVA chains. The *D* values measured for the PVA provide an indication of segmental motions of the PVA chains, not necessarily the displacement of the whole polymer network. The two peaks associated with dendrimer **2** in Figure 2.5A do not seem to show exactly the same self-diffusion coefficient. This is mainly due to the overlapping of signals between the PVA peak at 1.6 ppm and the dendrimer peak at 2.0 ppm. In fact, weaker signals from the dendrimer (not shown because of the threshold selected in the 2D plot) show the same *D* value as the peak at 3.7 ppm. In the PAAm system (Figure 2.5B), the peaks at 1.4, 1.8 and 2.9 ppm in are ascribed to the main chain methylene (CH₂) and methyne (CH) protons and the methylene protons on the side group CH₂NH₂ of PAAm. The protons of OCH₂ (3.8 ppm),

$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ and $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ (2.0 and 2.2 ppm) of **2** are also observed. The DOSY spectra in Figure 2.5 show that dendrimer **2** has lower D values with a wider distribution of D in PAAm than in PVA, while PVA has generally lower average D values and larger distribution of D than PAAm at the same concentration.

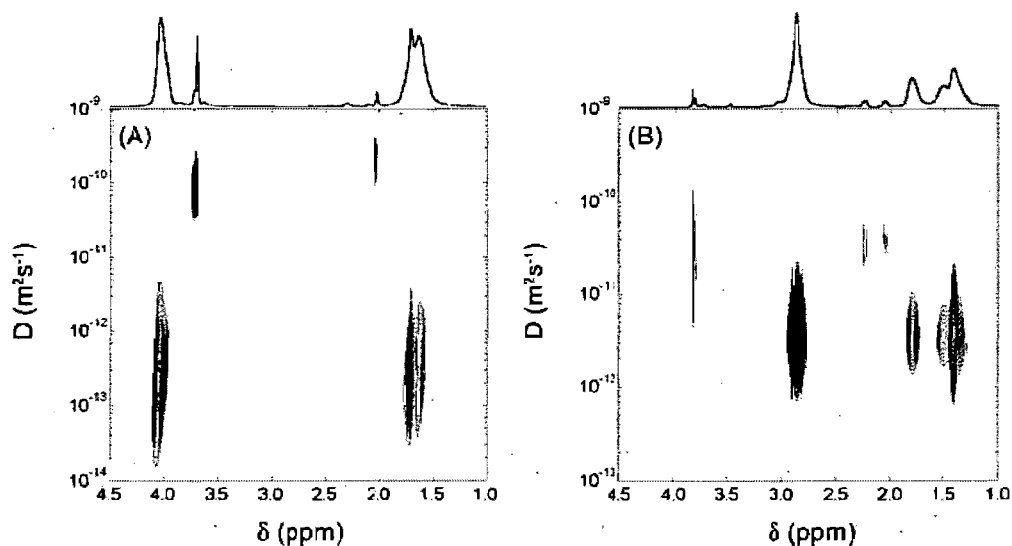


Figure 2.5. DOSY spectra of dendrimer **2** in two polymers ($0.15 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) at 25°C : (A) in PVA (PVA peaks at 4.0 and 1.6 ppm and dendrimer **2** peaks at 3.7 and 2.0 ppm); (B) in PAAm (PAAm peaks at 2.9, 1.8, and 1.4 ppm and dendrimer **2** peaks at 3.8, 2.2 and 2.0 ppm).

For better comparison, the distributions of self-diffusion coefficients of the dendrimer and the polymers in the two samples corresponding to selected slices in the DOSY spectra are shown in Figure 2.6. The distributions of self-diffusion coefficients for the methyne (CH) peak of PVA and the OCH_2 peak of **2** are shown in Figure 2.6A. Figure 2.6B shows the distribution of the self-diffusion

coefficients for the methylene protons of the side group CH_2NH_2 of PAAm and the OCH_2 protons of **2**. Comparison of the curves in Figure 2.6 reveals several interesting features. (1) PVA has a much lower mean D value and a much wider distribution of D than PAAm at the same concentration, which could be related to the more extensive network of intermolecular hydrogen bonding in the PVA systems. (2) The average D value of the dendrimer in PAAm is lower and more widely distributed than in PVA, showing the complexity of the self-diffusion of the dendrimer in PAAm, most likely due to ionic interactions. (3) The distribution of D values for the ionic dendrimer in PAAm is even wider than that of the polymer itself. The mean self-diffusion coefficient of the polymer is still smaller than that of the dendrimer, both distributions start at a value of ca. $7 \times 10^{-13} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. The distribution curve of dendrimer **2** shows a maximum at ca. $3.5 \times 10^{-11} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ with an obvious shoulder at ca. $3.0 \times 10^{-12} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$. The shoulder correspond to the maximum of the distribution curve for the polymer PAAm, suggesting that a fraction of the dendrimer actually diffuses together with PAAm due to the strong ionic interactions between them. This observation could be related either to the exchange between the bound and the unbound fractions of the diffusant, if the exchange is slow in comparison to the diffusion time (otherwise only a mean value would have been observed caused by time-averaging),³⁹ or to a complex transport mechanism of the diffusant, where the net displacement of the diffusant is related to the movement of PAAm.

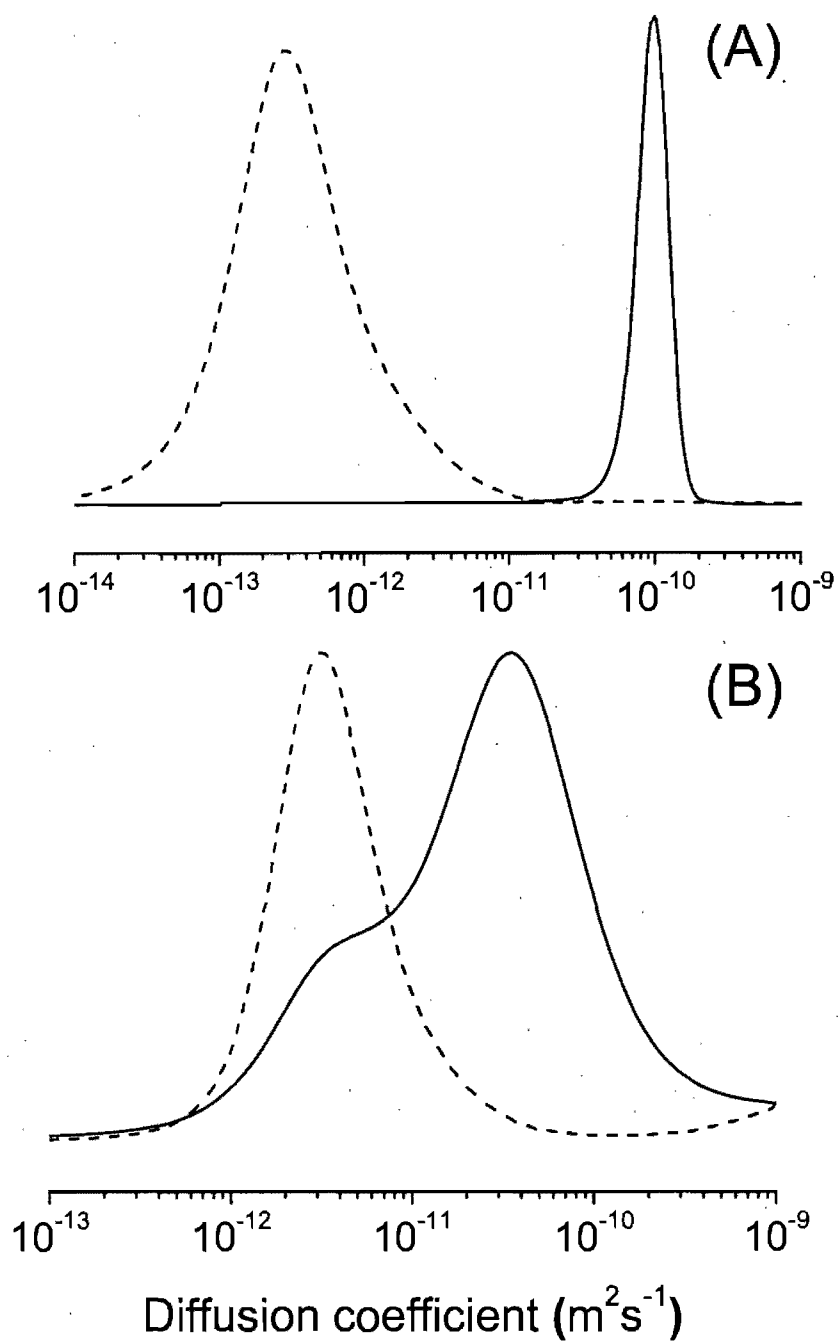


Figure 2.6. Distributions of self-diffusion coefficients for dendrimer 2 in aqueous polymer systems ($0.15 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) at 25°C : (A) in PVA; (B) in PAAm. Dashed lines are for the polymer and the solid lines are for the probe.

2.4.3. Activation Energy of the Diffusion Process.

Variable temperature experiments have been performed in an effort to better understand the diffusion processes. Figure 2.7A clearly shows that the self-diffusion coefficient of the dendrimer increases with temperature (Figure 2.7A), which is generally true for all diffusants.⁴ The reduced diffusion coefficients in Figure 2.7B show that the variation of temperature does not alter the nature of interactions between the polymer (PVA) and the diffusants under these circumstances. The temperature dependence of the \bar{D} values obtained from eq 2.4 can be used to determine the activation energy (E_a) associated with the diffusion of the molecular probes. The differences in E_a between the three probes are small (Table 2.2), even smaller than the experimental error, since the size variation of the probes is also small (Table 2.3).

Table 2.2. Activation energy (in kJ mol^{-1}) of the self-diffusion of the anionic dendritic probes in polymer systems.

[Polymer] ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	PVA			PAAm		
	1	2	3	1	2	3
0.00	19 ± 1	19 ± 1	18 ± 1	19 ± 1	19 ± 1	18 ± 1
0.05	20 ± 2	25 ± 2	19 ± 1	25 ± 2	29 ± 2	30 ± 6
0.10	20 ± 1	25 ± 3	21 ± 2	31 ± 9	31 ± 3	30 ± 10
0.15	20 ± 1	26 ± 3	22 ± 2	40 ± 10	51 ± 6	50 ± 10
0.20	22 ± 1	27 ± 2	21 ± 4	40 ± 10	50 ± 10	50 ± 10
0.25	24 ± 1	28 ± 2	22 ± 3	40 ± 10	53 ± 6	62 ± 9

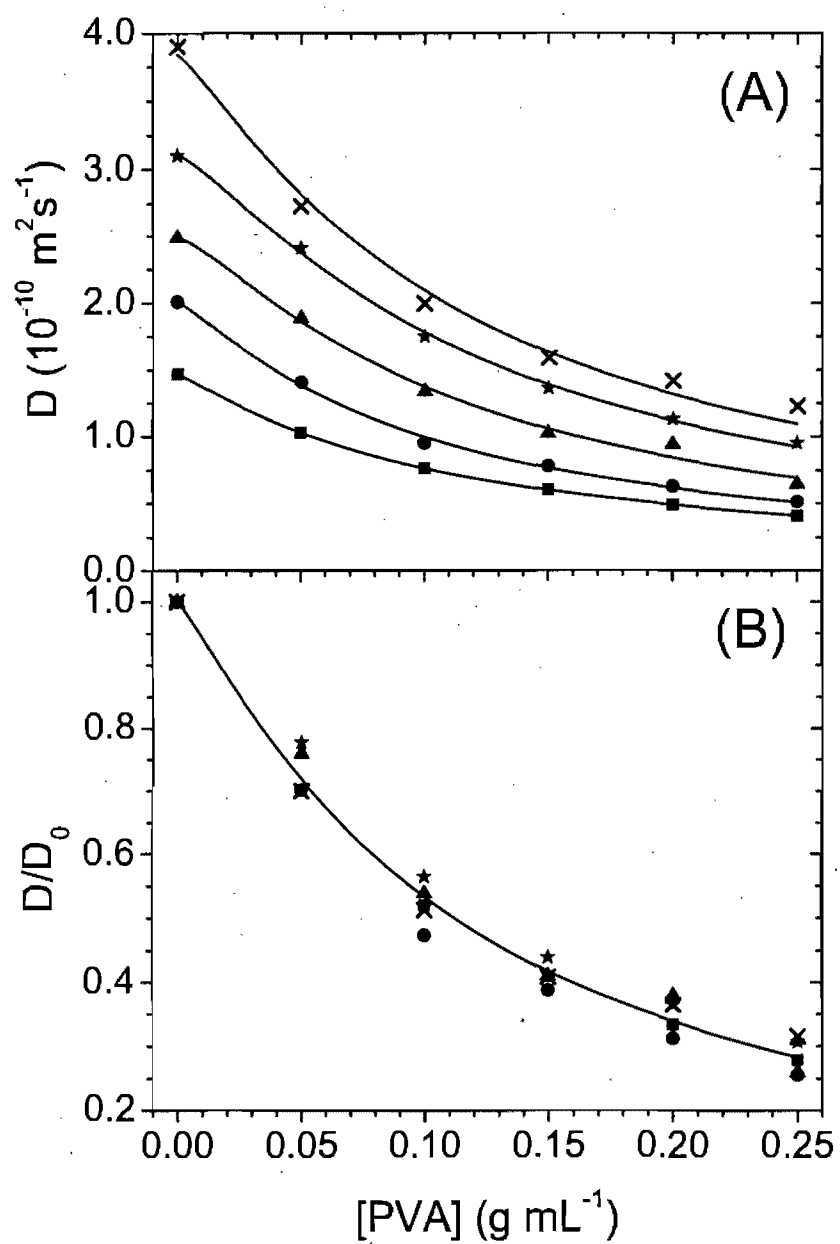


Figure 2.7. Temperature effect on (A) the self-diffusion coefficient and (B) reduced self-diffusion coefficient of dendrimer 1 in the PVA system. (■) 15oC; (●) 25oC; (▲) 35oC; (★) 45oC; (×) 55oC.

The self-diffusion coefficients measured at various temperatures are used to estimate the diffusional activation energy. Several trends can be observed in the E_a values in Table 2.2. (1) The difference of E_a between the three dendrimers is small in the same polymer system, mostly within the experimental error, showing the interactions are rather similar. (2) The E_a value is dependent on the polymer concentration, since the diffusing probes require more energy to diffuse in a more hindered environment when the polymer concentration becomes higher.⁴⁰ This is especially true for the PAAm system since the polymer chains of PAAm can no longer be considered as inert obstacles for the diffusion process.⁴⁰ The net displacement of the anionic dendrimers in PAAm systems is determined by the combined movements of the dendrimer and of the polymer network. (3) The polymer has a large effect on the E_a of the dendrimers, especially at higher polymer concentrations. This provides another evidence of the strong ionic binding between the anionic dendrimers and PAAm. If the ratio of the number of acid groups to the molecular weight of the diffusant is taken as an indication of the charge density, 1 and 2 have similar density of acid groups while 3 has a lower density. The combination of the opposite effects of charge density and molecular size of the dendrimers may help explain the small difference between 2 and 3. The increase in the density of the COOH groups should strengthen the hydrogen bonding between the diffusant and PVA.

2.4.4. Self-Diffusion of the Dendritic Probes.

The carboxylic acid end groups of the dendritic diffusing probes seem to have an effect even on their self-diffusion coefficients in pure water in comparison to the linear,⁵ hyperbranched⁸ and dendritic⁷ PEG polymers. They are more than 20% higher than those of the linear PEGs and of the poly(propyleneimine) dendrimers functionalized with triethyleneoxy methyl ether groups (PPI(TEO)) of similar molecular weights. The larger D_0 values can be related to their smaller hydrated

radii, which is related to the diffusion coefficient through the Stokes-Einstein equation.⁸ The hydrated structures of diffusants 1, 2, and 3 seem to be more collapsed than other uncharged PEGs dendrimer of comparable molecular weight (Table 2.3). The size of the dendrimer is known to vary with end groups and the ionic strength of the solution.¹⁹

The comparison of the self-diffusion coefficients measured for the anionic dendrimers to those of PEGs of similar molar masses measured previously⁵ reveal some interesting behaviors. The self-diffusion of 1 in the PVA-water system follows the same trend as that of linear (PEG-2000)⁵ and dendritic (PPI(TEO)₈)⁷ PEGs (Figure 2.8A), while 2 has a behavior significantly different from the linear (PEG-8000) and dendritic (PPI(TEO)₃₂)⁷ diffusants (Figure 2.8B). The differences among the D/D_0 values for linear⁵, hyperbranched⁸ or dendritic⁷ PEGs are small, but the end groups of the ionic dendrimers used here have a larger effect and this effect is more pronounced for 2 or 3 than for 1. This may be related either to the larger molecular flexibility of 1 (see Figure 2.1) or to the number of COOH groups on the dendrimers (12 for 1 vs 36 for 2 and 3). The variations observed in Figure 2.8 are attributed to size differences among the diffusants (PEGs) chemically similar but structurally different, since size is the main factor influencing the self-diffusion of the probes⁴ in the absence of specific interactions between the diffusant and the polymer.

The activation energy of the whole diffusion process for a given polymer-diffusant-solvent ternary system can be measured from the diffusion experiments as described previously.^{5, 7, 8} The E_a values obtained this way do not vary with polymer concentration. E_a was shown to increase with the molecular weight of the diffusant⁵ and a more compact molecular structure (of similar molecular weight) leads to a lower E_a .⁸ The dendritic diffusants studied here are more compact and thus have lower activation energies than the linear, hyperbranched or dendritic PEGs of similar molar masses (Table 2.3).^{5, 7}

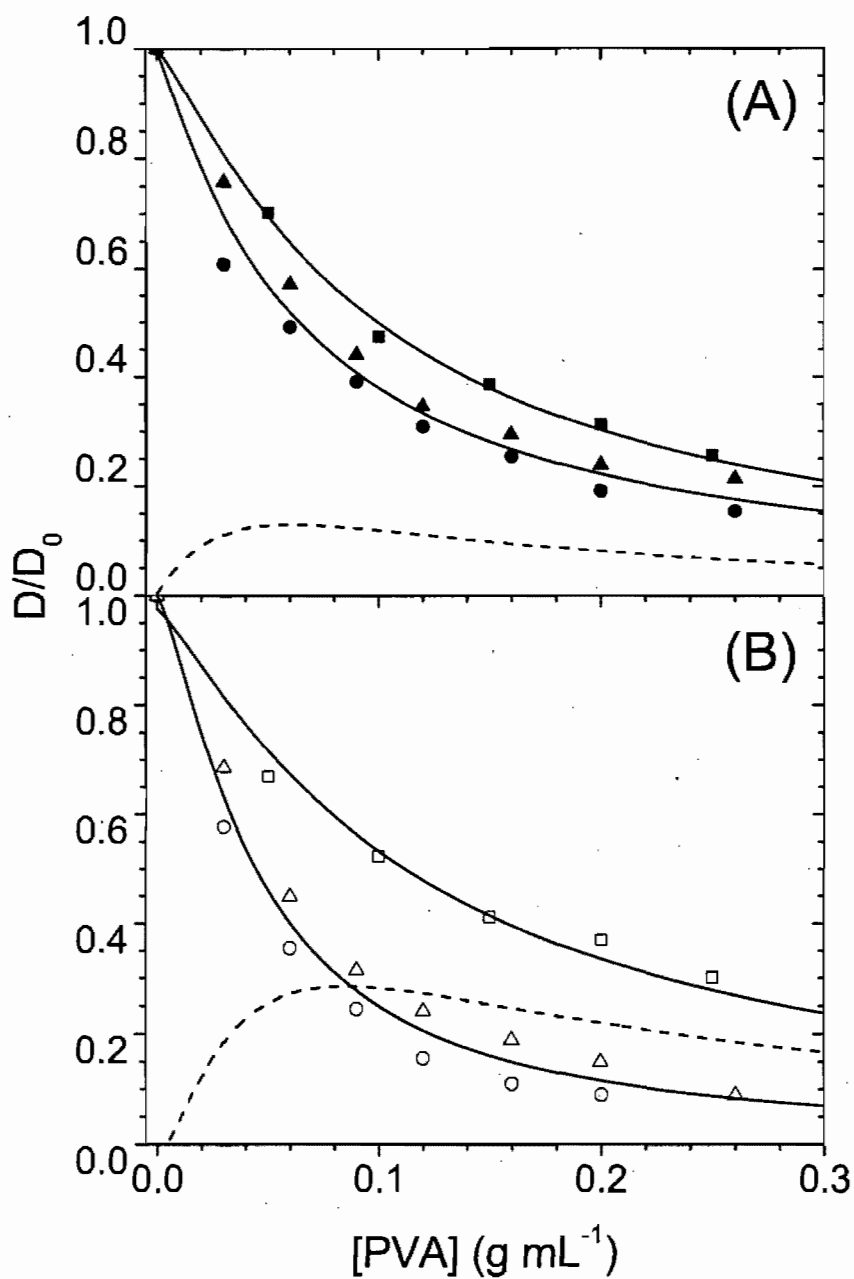


Figure 2.8. Reduced diffusion coefficient of selected diffusing probes as a function of PVA concentration. Diffusing probes with a molecular weight of ca. 2000 (A) and ca. 8000 (B). (■) Dendrimer 1; (●) PEG-2000; (▲) PPI(TEO)₈; (□) Dendrimer 2; (○) PEG-8000; (△) PPI(TEO)₃₂. The dashed line represents the difference of the reduced self-diffusion coefficients between the two diffusants of similar molecular weights.

Table 2.3. Comparison of the activation energy of self-diffusion between carboxylated dendrimer and linear and dendritic PEGs in aqueous PVA systems.

Diffusant	M (g/mol)	D_0 ($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	R_h (nm)	E_a (kJ/mol)
1	2111	2.01	1.22	19 ± 5
2	6358	1.83	1.34	25 ± 4
3	7227	1.67	1.47	21 ± 2
PPI(TEO) ₈	2055	1.64 ^a	1.49	28 ± 2
PPI(TEO) ₃₂	8639	0.91 ^a	2.69	36 ± 3
PEG-2000	2000	1.10 ^b	2.25	38 ± 9
PEG-8000	8000	0.64	3.77	43 ± 2

D_0 : D of the diffusant probe in pure D_2O measured by NMR at 25°C .

R_h : Hydrodynamic radius obtained from the Stokes-Einstein equation.

^a Results from ref 7.

^b Results from ref 5.

2.5. Conclusion

The diffusion characteristics of these anionic dendritic probes differ largely from those of neutral hydrophilic probes. In a neutral polymer system such as that of PVA, where there are no specific interactions, the size of the diffusant is the main factor affecting its diffusion in a polymer. The diffusion process of the anionic dendrimers in the cationic PAAm systems is more complex than that in PVA, a result of the ionic interactions. A distribution of self-diffusion coefficients was observed, conceivably due, among other factors, to the slow exchange between the free and bound dendritic diffusants. The ionic binding of the diffusants with PAAm is stronger than their hydrogen bonding with PVA as observed by the higher activation energy.

2.6. References

1. Peschier, L.J.C., Bouwstra, J.A., de Bleyser, J., Junginger, H.E. et Leyte, J.C., *Water Mobility and Structure in Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Hydrogels by Means of the Pulsed Field Gradient NMR Technique*. *Biomaterials*, **1993**. 14, 945-952.
2. Skirda, V.D., Aslanyan, I.Y., Philippova, O.E., Karybians, N.S. et Khokhlov, A.R., *Investigation of Translational Motion of Poly(ethylene glycol) Macromolecules in Poly(methacrylic acid) Hydrogels*. *Macromol. Chem. Phys.*, **1999**. 200, 2152-2159.
3. Petit, J.-M., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Solute Probe Diffusion in Aqueous Solutions of Poly(vinyl alcohol) as Studied by Pulsed-Gradient Spin-Echo NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **1996**. 29, 70-76.
4. Petit, J.M., Roux, B., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *A New Physical Model for the Diffusion of Solvents and Solute Probes in Polymer Solutions*. *Macromolecules*, **1996**. 29, 6031-6036.
5. Masaro, L., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Self-Diffusion of Oligo- and Poly(ethylene glycol)s in Poly(vinyl alcohol) Aqueous Solutions As Studied by Pulsed-Gradient NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **1998**. 31, 3880-3885.
6. Kwak, S. et Lafleur, M., *Self-Diffusion of Macromolecules and Macroassemblies in Curdlan Gels as Examined by PFG-SE NMR Technique*. *Colloids Surf., A*, **2003**. 221, 231-242.
7. Baille, W.E., Malveau, C., Zhu, X.X., Kim, Y.H. et Ford, W.T., *Self-Diffusion of Hydrophilic Poly(propyleneimine) Dendrimers in Poly(vinyl alcohol) Solutions and Gels by Pulsed Field Gradient NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **2003**. 36, 839-847.
8. Baille, W.E., Zhu, X.X. et Fomine, S., *Study of Self-Diffusion of Hyperbranched Polyglycidols in Poly(vinyl alcohol) Solutions and Gels by Pulsed-Field Gradient NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **2004**. 37, 8569-8576.
9. Colsenet, R., Söderman, O. et Mariette, F., *Effect of Casein Concentration in Suspensions and Gels on Poly(ethylene glycol)s NMR Self-Diffusion Measurements*. *Macromolecules*, **2005**. 38, 9171-9179.
10. Colsenet, R., Söderman, O. et Mariette, F., *Pulsed Field Gradient NMR Study of Poly(ethylene glycol) Diffusion in Whey Protein Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **2006**. 39, 1053-1059.

11. Zhang, Y. et Amsden, B.G., *Application of an Obstruction-Scaling Model To Diffusion of Vitamin B₁₂ and Proteins in Semidilute Alginate Solutions*. *Macromolecules*, **2006**. 39, 1073-1078.
12. Cukier, R.I., *Diffusion of Brownian Spheres in Semidilute Polymer Solutions*. *Macromolecules*, **1984**. 17, 252-255.
13. Amsden, B., *Solute Diffusion within Hydrogels. Mechanisms and Models*. *Macromolecules*, **1998**. 31, 8382-8395.
14. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Physical Models of Diffusion for Polymer Solutions, Gels and Solids*. *Prog. Polym. Sci.*, **1999**. 24, 731-775.
15. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Self-Diffusion of End-Capped Oligo(ethylene glycol)s in Poly(vinyl alcohol) Aqueous Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **1999**. 32, 5383-5390.
16. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Interaction of Ethylene Glycol with Poly(vinyl alcohol) in Aqueous Systems as Studied by NMR Spectroscopy*. *Langmuir*, **1999**. 15, 8356-8360.
17. Lee, H. et Chang, T., *Hydrogen Bonding of Methyl Red to Poly(methyl methacrylate) and Poly(vinyl acetate) in Toluene Solution: a Diffusion, Binding, and Simulation Study*. *Macromolecules*, **2001**. 34, 937-941.
18. Darwish, M.I.M., van der Maarel, J.R.C. et Zitha, P.L.J., *Ionic Transport in Polyelectrolyte Gels: Model and NMR Investigations*. *Macromolecules*, **2004**. 37, 2307-2312.
19. Young, J.K., Baker, G.R., Newkome, G.R., Morris, K.F. et Johnson, C.S., Jr., *"Smart" Cascade Polymers. Modular Syntheses of Four-Directional Dendritic Macromolecules with Acidic, Neutral, or Basic Terminal Groups and the Effect of pH Changes on Their Hydrodynamic Radii*. *Macromolecules*, **1994**. 27, 3464-3471.
20. Newkome, G.R., Kotta, K.K., Mishra, A. et Moorefield, C.N., *Synthesis of Water-Soluble, Ester-Terminated Dendrons and Dendrimers Containing Internal PEG Linkages*. *Macromolecules*, **2004**. 37, 8262-8268.
21. Tanner, J.E., *Use of the Stimulated Echo in NMR Diffusion Studies*. *J. Chem. Phys.*, **1970**. 52, 2523-2526.
22. Ammann, C., Meier, P. et Merbach, A.E., *A Simple Multinuclear NMR Thermometer*. *J. Magn. Reson.*, **1982**. 46, 319-321.
23. Johnson, C.S., Jr., *Diffusion Ordered Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Applications*. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.*, **1999**. 34, 203-256.

24. Steinbach, P.J., Ionescu, R. et Matthews, C.R., *Analysis of Kinetics Using a Hybrid Maximum-Entropy/Nonlinear-Least-Squares Method: Application to Protein Folding*. Biophys. J., **2002**. 82, 2244-2255.
25. Nystrom, B., Walderhaug, H. et Hansen, F.K., *Dynamic Crossover Effects Observed in Solutions of a Hydrophobically Associating Water-Soluble Polymer*. J. Phys. Chem., **1993**. 97, 7743-7752.
26. Abrahmsen-Alami, S., Persson, K., Stilbs, P. et Alami, E., *Effect of Temperature on NMR Self-Diffusion in Aqueous Associative Polymer Solutions*. J. Phys. Chem., **1996**. 100, 4598-4605.
27. Provencher, S.W., *A Constrain Regularization Methods For Inverting Data Represented by Linear Algebraic or Integral Equations*. Comput. Phys. Commun., **1982**. 27, 213-227.
28. Provencher, S.W., *CONTIN: a general Purpose Constrained Regularization Program for Inverting Noisy Linear Algebraic and Integral Equations*. Comput. Phys. Commun., **1982**. 27, 229-242.
29. Tikhonov, A.N., *Nonlinear Ill-Posed Problems*. **1998**, London, Chapman & Hall.
30. Twomey, S., *The Determination of Aerosol Size Distribution from Diffusional Decay Measurements*. J. Franklin Ints., **1963**. 275, 121-138.
31. Huo, R., Wehrens, R., Van Duynhoven, J. et Buydens, L.M.C., *Assessment of Techniques for DOSY NMR Data Processing*. Anal. Chim. Acta, **2003**. 490, 231-251.
32. Delsuc, M.A. et Malliavin, T.E., *Maximum Entropy Processing of DOSY NMR Spectra*. Anal. Chem., **1998**. 70, 2146-2148.
33. Abrahmsen-Alami, S. et Stilbs, P., *NMR Self-Diffusion of Associative Polymers in Aqueous Solution: The Influence of the Hydrocarbon End-Chain Length on the Polymer Transport Dynamics in Single- and Two-Component Mixtures*. J. Colloid Interface Sci., **1997**. 189, 137-143.
34. Williams, G. et Watts, D.C., *Non-Symmetrical Dielectric Relaxation Behavior Arising from a Simple Empirical Decay Function*. Trans. Faraday Soc., **1970**. 66, 80-85.
35. Walderhaug, H., Hansen, F.K., Abrahmsen, S., Persson, K. et Stilbs, P., *Associative Thickeners: NMR Self-Diffusion and Rheology Studies of Aqueous Solutions of Hydrophobically Modified Poly(oxyethylene) Polymers*. J. Phys. Chem., **1993**. 97, 8336-8342.

36. Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Pulsed-Gradient Spin-Echo NMR Measurements of the Diffusion-Coefficients of Ketones in Poly(Methyl Methacrylate)*. *Macromolecules*, **1992**. 25, 4345-4351.
37. Zaikov, G.E., Iordanskii, A.L. et Markin, V.S., *Diffusion of Electrolytes in Polymers*. **1988**, Utrecht, VNU Science Press BV.
38. de Gennes, P.-G., *Scaling Concepts in Polymer Physics*. **1979**, Ithaca, Cornell University Press.
39. Cohen, Y., Avram, L. et Frish, L., *Diffusion NMR Spectroscopy in Supramolecular and Combinatorial Chemistry: An Old Parameter—New Insights*. *Angew. Chem.*, **2005**. 44, 520-554.
40. Pickup, S. et Blum, F.D., *Self-Diffusion of Toluene in Polystyrene Solutions*. *Macromolecules*, **1989**. 22, 3961-3968.

Chapitre 3 : Effet de la température sur la diffusion de l'eau dans des comprimés d'amidon modifié*

The penetration of water into cross-linked high amylose starch tablets was studied at different temperatures by nuclear magnetic resonance (NMR) imaging, which follows the changes occurring at the surface and inside the starch tablets during swelling. It was found that the swelling was anisotropic while water diffusion was almost isotropic. The water proton image profiles at the initial stage of water penetration were used to calculate the initial diffusion coefficient. The swelling and water concentration gradients in this controlled release system show significant temperature dependence. Diffusion behavior changed from Fickian to Case II diffusion with increasing temperature. The observed phenomena are attributed to the gelatinization of starch and the pseudo cross-linking effect of double helix formation.

3.1. Introduction

Polysaccharides such as cellulose,¹ alginate,² chitosan³ and starch⁴⁻⁸ have been widely used for the study and formulation of drug delivery systems. These hydrophilic excipients are interesting since they can improve drug efficacy and patient compliance at lower cost.⁹ Among polymeric drug carriers, starch is

* Thérien-Aubin, H., Baille, W. E., Zhu, X. X. et Marchessault, R.H., *Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 3. Initial Diffusion and Temperature Effects*, *Biomacromolecules*, 2005, 6, 3367-3372.

particularly appealing because it is a high purity biocompatible material that is mass-produced.¹⁰ Tablets using modified hybrid starch as excipient have been shown to display zero-order release over 2 to 24 hours and over 3 to 4 weeks when the modified starch is used as an implant.⁶

Starch is a natural polymer of glucose units and is composed of two different polymeric forms: amylose and amylopectin. Amylose is a linear polysaccharide with $\alpha(1-4)$ glucosidic bonds and a single chain can contain up to 4000 glucose units. Amylopectin has roughly the same structure as amylose but contains approximately 5 % $\alpha(1-6)$ glucosidic bonds which leads to a unique branched structure capable of crystallizing. Amylopectin has a molecular weight about 100 times greater than amylose. Starch is widely used in controlled release system because it is biodegradable and can be easily metabolized in the human body.¹¹ In tablet form a gel membrane at the surface blocks the erosive effect of the amylase enzymes thereby preserving the tablet shape.

To obtain a more efficient release system, a better understanding of the drug diffusion process is needed. Factors influencing the drug release such as water penetration and swelling of the polymer matrix should be investigated. Indeed, these systems have been studied by various techniques such as optical methods,¹² mechanical methods,¹³ FTIR imaging^{14, 15} and NMR imaging¹⁶⁻²¹ which all follow changes in the tablet matrix during water uptake. The noninvasive and nondestructive nature of NMR imaging allows studies of both swelling and solvent concentration changes inside a tablet.

Cross-linked high amylose starch has interesting flow and adhesive behavior well suited as a dry binder for tablet production.²² Upon hydration, these tablets form a semipermeable porous medium^{23, 24} which has been shown to provide a sustained release matrix⁴⁻⁶. Previously, we have reported on the temperature¹⁷ and

tablet size dependence¹⁸ of swelling and water uptake in a chemically modified starch excipient. Here, we report NMR imaging studies of swelling and water penetration in a new type of high amylose modified starch excipient and the temperature dependence of these phenomena.

3.2. Experimental Section

3.2.1. Tablet Preparation.

Tablets were provided by Labopharm Inc. (Laval, QC, Canada). The excipients are made of chemically modified high amylose starch. Starch containing 70% of amylose was first treated with 0.075% of phosphorus oxychloride (wt % of dry starch) for 1 h at 30°C in an alkaline medium. The granular starch slurry was then functionalized with 6% of propylene oxide for 20 hours at 40°C. After centrifugal washing, the slurry was gelatinized by heating at 160°C for 4 minutes under a pressure of 5.5 bar. The product was then spray-dried.⁶ Tablets used in this study were 9.10 ± 0.02 mm in diameter and 3.65 ± 0.02 mm in thickness for a mass of 209 ± 3 mg leading to a bulk density of 0.88 ± 0.02 g/cm³. A single station tablet press (Stokes model-S4) was used. The compression force used was 22.5 ± 0.3 kN leading to a tablet hardness of 134 ± 1 N.

3.2.2. NMR Imaging Experiments.

¹H NMR imaging experiments were carried out on a Bruker DSX300 NMR spectrometer operating at a frequency of 300.13 MHz for protons and equipped with a 20 mm inner-diameter micro-imaging probe. The system was also equipped with three orthogonal field gradient coils (maximum gradient 100 G/cm). A standard spin-echo pulse sequence was used in order to obtain images of the

tablets in either a 15 mm or a 20 mm outer diameter NMR tube containing 20 mL of a 1:1 mixture of H₂O and D₂O. A slice of 1 mm in thickness was selected either perpendicular or parallel to the main magnetic field (axial direction) using a sinc-shaped pulse. Four scans were accumulated to obtain 128×128 pixel images with fields of view of 2 cm which lead to an in-plane resolution of 156 μm. An echo-time (TE) of 6 ms and a repetition-time (TR) of 1 s were fixed leading to an acquisition time of about 8.5 minutes for each image. To characterize water uptake by the tablets, images were recorded both in the radial and axial directions of the tablet at 25, 37, 45 and 60°C. The total duration of the experiment ranged from 20 hours at 60°C to 10 days at 25°C.

3.3. Results and Discussion

3.3.1. NMR Images.

Figure 3.1 shows typical axial images obtained by NMR imaging of starch tablets at 25°C. One can observe a receding dry part of the tablet (purple) and an increase in the overall dimension of the tablet with time. These images seem to show that the spin density is higher in the swollen tablet (red) than in free water (green), but this contrast was adjusted by the relaxation delay during imaging to identify the water outside and inside the tablet. To do so, the repetition time used is shorter than the T₁ of free water but much longer than the T₁ of water in the tablet. Thus, the signal from free water is less intense than that of the water in the highly swollen tablet, which allows easy identification of the outer limits of the tablet.

These NMR images indicate that when tablets are immersed in water a gel membrane is formed at the water-tablet interface^{24, 25} which has a reduced porosity

in comparison to the inner structure of the tablet.²⁴ This low porosity membrane does not progress toward the center of the tablet after its formation. Swelling reaches a maximum first, but water continues to penetrate slowly into the core of the tablet, until a constant water concentration is reached. After this, gelation of the interior of the tablet occurs. An identical behavior is observed at 37 and 45°C (images not shown). However, at 60°C the gel membrane steadily progresses toward the center of the tablet. The time needed to reach equilibrium changes significantly with the temperature: at 25°C equilibration takes 270 h, at 37°C 100 h, at 45°C, 85 h and at 60°C only 10 h. In all cases neither erosion nor fracture of the tablets occurred with time, except when a swollen tablet is subject to agitation or to mechanical abrasion.

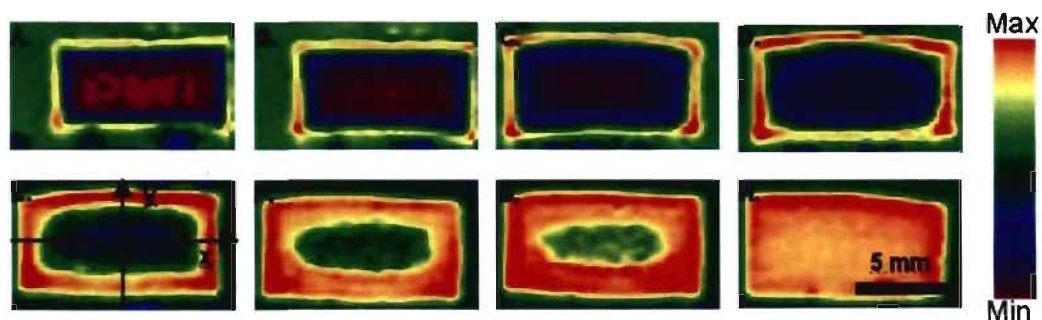


Figure 3.1. NMR images of starch tablets during sorption at 25°C after various durations of immersion. In image E, x indicates the radial direction and y the axial direction. (A) 35 min (B) 75 min (C) 210 min (D) 10 h (E) 80 h (F) 156 h (G) 169 h (H) 264 h.

3.3.2. Estimation of the Initial Diffusion Coefficients from the Images Profiles.

NMR imaging gives access to the water concentration inside the tablet. The water profiles in the tablets can be used to calculate the diffusion coefficient. For simple Fickian diffusion, concentration of the diffusant in a cylinder is given by²⁶

$$\frac{C - C_0}{C_\infty - C_0} = 1 - \frac{2}{r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-D\alpha_n^2 t} J_0(x\alpha_n)}{\alpha_n J_1(r\alpha_n)} \quad 3.1$$

and in a plane by²⁶

$$\frac{C - C_0}{C_\infty - C_0} = 1 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} e^{-\frac{D(2n+1)^2 \pi^2 t}{4l^2}} \cos \frac{(2n+1)\pi x}{2l} \quad 3.2$$

where C is the concentration of water at time t at position x in the tablet, C_0 the initial concentration, C_∞ the concentration at equilibrium, D the diffusion coefficient, l the thickness of the tablet, r the radius of the tablet and α_n the n^{th} root of the Bessel function J_0 .

These analytical equations are used to fit the water profiles obtained by NMR imaging (Figure 3.2), and they remain valid only for the consideration of the initial diffusion of water in the first hour of immersion (to neglect the effect of the tablet edges at longer durations). In this case, the tablet can be regarded as either an infinite cylinder or an infinite slab depending on the axis of observation and any non-Fickian behavior can be disregarded. The difference between the radial (x axis in Figure 3.1.E) and the axial (y axis in Figure 3.1.E) diffusion coefficients (Table 3.1) is much less than the experimental error, so there is no significant difference in the water penetration kinetics, at the initial stage of the diffusion process, caused by compression, along the axial direction, of the chemically modified starch powder for tablet preparation.

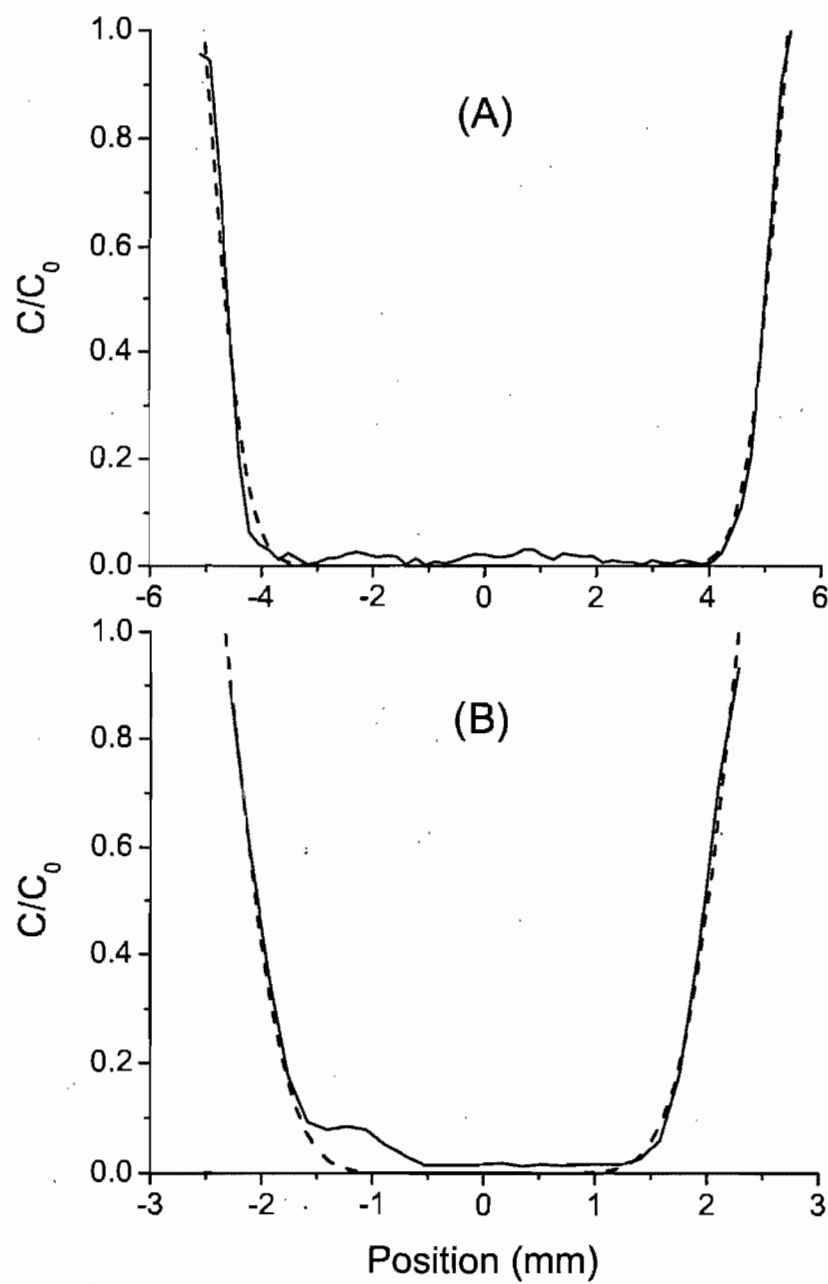


Figure 3.2. Water concentration profile (—) and fits (- -) along (A) radial direction and (B) axial direction at 25 °C after 35 min.

Table 3.1. Initial (D_0) and Mean (\bar{D}) Diffusion Coefficient of Water in Chemically Modified Starch Tablets

Temperature (°C)	Concentration profile fit		¹ H signal integration
	Axial D_0 (10^{-11} ms ⁻¹)	Radial D_0 (10^{-11} ms ⁻¹)	\bar{D} (10^{-11} ms ⁻¹)
25	4.3 ± 0.2	3.9 ± 0.6	1.1 ± 0.1
37	7.4 ± 0.2	7 ± 1	2.11 ± 0.06
45	12 ± 1	8 ± 1	2.60 ± 0.03
60	15 ± 1	16 ± 1	--
E_a (kJ/mol)	34 ± 5	26 ± 6	35 ± 5

3.3.3. Description of the Complete Diffusion Process.

NMR images were used to follow water penetration into the tablets as a function of time. The water propagation front inside the tablet is defined as the location where the intensity of the image corresponds to 1/6 of the intensity of the free water signal. The results are used to characterize the type of diffusion process in the tablet at four different temperatures. The values are fitted to²⁷

$$d = k_d t^n \quad 3.3$$

where d is the distance covered by the diffusing front after an immersion time t , and k_d a parameter related to the velocity of the diffusion. The parameter n is representative of the penetration kinetic and is equal to 0.5 for Fickian diffusion and to 1 for Case II diffusion. Intermediate values indicate an anomalous process of diffusion. These values of n are for diffusion in a sheet and geometrical variations slightly alter these values.

The results (Table 3.2) show that the diffusion is Fickian between 25 and 45°C and Case II at 60°C. It is known that for the same pair of polymer-diffusant different behaviors may be observed by varying either the temperature or the diffusant concentration,²⁸ since the relaxation rate of the polymer matrix may increase when the temperature is raised. In Figure 3.3.A the curves at 37 and 45°C show that the water penetration exhibits what appears to be a two-stage diffusion process. In the first stage, the value obtained by fitting the data to eq 3.3 shows a Fickian behavior, but in the second stage a quasi-Case II diffusion is observed. The same behavior is also observed at 25°C at longer immersion times. This is an artifact due to the edge effects caused by the finite cylindrical shape of the tablet. Equation 3.3 is normally used with data obtained from mass uptake of solvent. The proton signal integration (Figure 3.3.B) should be similar to the mass uptake data and is insensitive to the edge effect, which causes problems in the images by giving a false solvent front, especially after relatively long immersion times. The edge effects caused the deviation of the data in Figure 3.3.A (in comparison with Figure 3.3.B).

Table 3.2. Water Penetration Kinetics, Parameter n in Eq 3.3 Obtained with the Solvent Front Measurements and the Water ^1H NMR Signal Integrations

Temperature (°C)	Advancing front		^1H signal integration	
	Axial	Radial	Axial	Radial
25	0.48 ± 0.04	0.50 ± 0.02	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
37	-- ^a	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.47 ± 0.09
45	-- ^a	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.2	0.51 ± 0.04
60	0.95 ± 0.03	0.93 ± 0.03	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.1

^a Larger swelling and smaller dimension in the axial direction than in the radial direction make the interpretation of the data difficult.

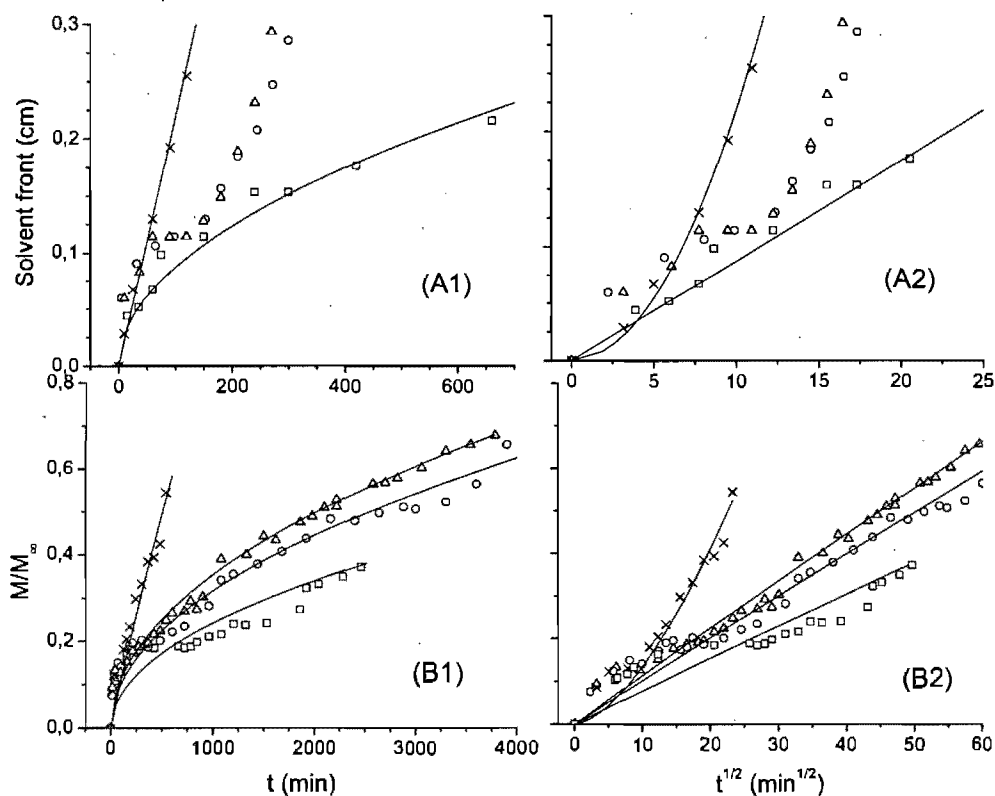


Figure 3.3. Penetration kinetic profiles obtained from the advancing of the solvent front (A1 and A2) and from the NMR ^1H signal integration (B1 and B2) of starch tablets along the radial direction at various temperatures. Solid lines are fits to eq 3.2. \square 25°C , \circ 37°C , Δ 45°C and \times 60°C

Usually, the kinetics of water penetration can be described by the weight gain of the sample, measured gravimetrically, as a function of time. Typical results obtained by gravimetric measurements are shown in Figure 3.4. Upon immersion, a rapid weight gain due to the swelling of the tablet and to capillary effects is observed. After this initial swelling, water continues to diffuse into the tablet, but at a slower rate as observed at 25 and 37°C . After a long immersion time, the tablets start to disintegrate due to mechanical abrasion causing an apparent weight

loss. The tablets are weaker at higher temperatures and the disintegration of the tablet becomes faster as shown by the more obvious and earlier weight loss at 45 and 60°C. Swelling rates are similar to those obtained from dimensional change as observed with NMR imaging size measurements (Figure 3.5). In this case, disintegration of the tablet is not observed as in Figure 3.4 since the tablet was not disturbed mechanically during the NMR experiment.

NMR imaging can provide similar information as the mass uptake measurements. The relative amount of water in the tablet mass can be measured by integrating the water concentration profile over space. Fitting these integration results to eq 3.3, where d is the ratio M/M_∞ , the ratio of the total water signal in the tablet at time t to that at the equilibrium, allows the characterization of the diffusion behavior. Figure 3.3.B shows the results obtained from the integration of spin density profiles along the radial axis. Since there is less swelling in the radial axis, it is possible to characterize the diffusion behavior without major interference of the swelling process along the radial axis. After a short immersion time, swelling effects are observed as a burst in the NMR signal, this behavior is more pronounced in the axial profile, and the errors involved make the interpretation of the results difficult. As for the results shown in Figure 3.3.A, the diffusion process is Fickian between 25 and 45°C, but at 60°C the process still demonstrates a non-Fickian type of sorption. The water NMR signal integration shows that the diffusion process is clearly Fickian at 37 and 45°C in addition to the "two-stage" sorption curve observed with solvent front penetration.

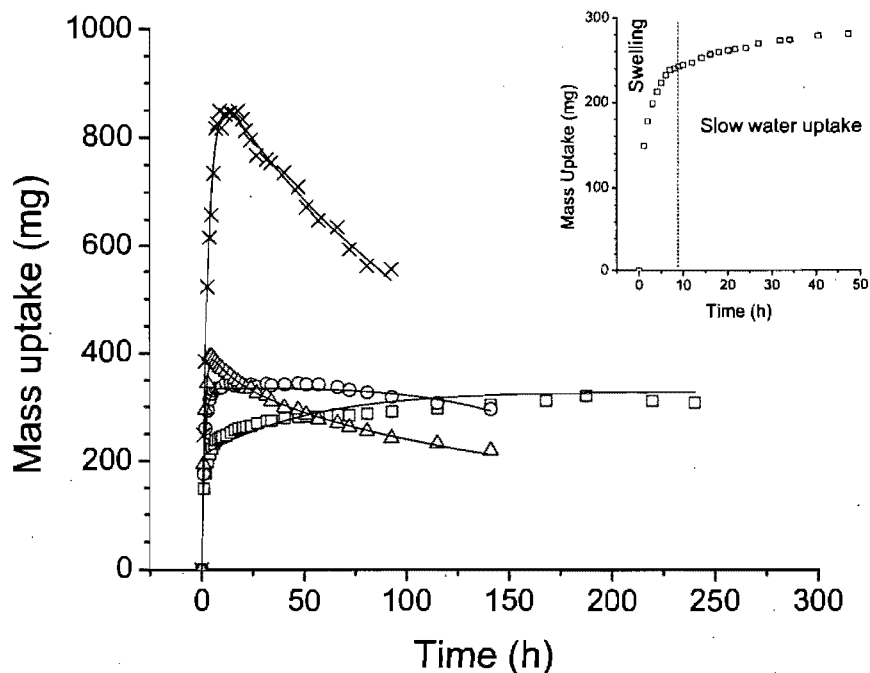


Figure 3.4. Gravimetric mass uptake of starch tablets as a function of time at various temperatures. \square 25°C, \circ 37°C, Δ 45°C and \times 60°C

Since Fickian behavior is observed between 25 and 45°C, the parameter k of eq 3.3 is related to the mean diffusion coefficients by²⁹

$$\bar{D} = \left(\frac{\pi k_d r}{4} \right)^2 \quad 3.4$$

where k_d is the constant from eq 3.3 and r the radius of the tablet. An activation energy can be calculated from these results by the use of an Arrhenius equation describing the temperature dependence of the diffusion coefficient. There is no significant difference between the activation energy of the diffusion process and that of the swelling process. Normally, the diffusion process has an activation

energy similar to or lower than the swelling process since the diffusion process may involve less movement of polymer segments. The higher or equal activation energy of the swelling process is due to polymer chain dynamics.

The diffusion coefficients obtained this way are smaller than those obtained from eq 3.4, mainly because eq 3.4 provides a mean diffusion coefficient, whereas fits with eqs 3.1 and 3.2 provide an “instantaneous” diffusion coefficient. These fits are done only in the initial stage of the diffusion process when the gel membrane at the tablet-water interface is being formed. The outer membrane of the tablet has an important effect on the diffusion behavior. The diffusion coefficients obtained after 10 hours have decreased by one order of magnitude relative to those measured immediately after immersion. The diffusion coefficient drops since the gel membrane formed slows down the diffusion process.

3.3.4. Swelling of the Tablets.

The change in the overall dimensions of the tablets is described by the swelling percentage, defined as the increase in dimensions relative to the initial dimensions. Starch used in the tablets is paracrystalline in the dry state and presents only a V-type single helix structure as shown by the ^{13}C CP/MAS spectra.³⁰ However, when hydrated, the structure partially converts to a B-type double helix.³⁰ Thus, when starch is hydrated, new physical cross-linking points are created by the change of the helical conformation, leading to a 3D network which contributes to the limited total swelling of the starch excipients. The swollen tablet cross-section retains its rectangular shape which is a proof of this continuous internal scaffold.

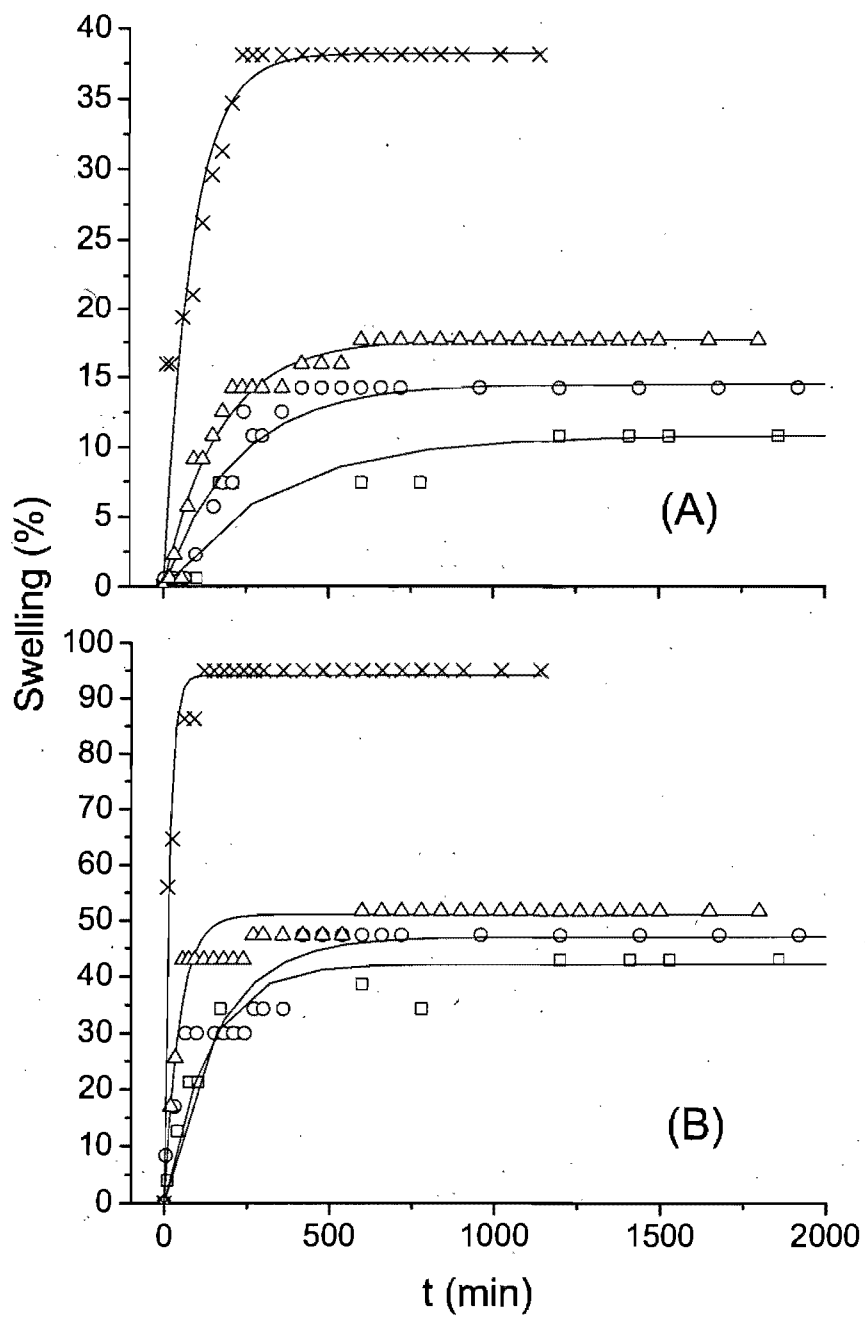


Figure 3.5. Swelling kinetics of starch tablets along (A) radial direction and (B) axial direction at various temperatures. Solid lines are fits to equation 3.5. □ 25°C, ○ 37°C, △ 45°C and × 60°C

At every temperature, the tablets swell more along the axial direction than in the radial direction. This may be attributed to the effect of compression on the powder particles, where the applied force in the axial direction leads to flat particles bound to each other. Scanning electron microscopy (SEM) observations show that after spray-drying, the chemically modified starch powders are concave spheres and after compression they collapse into irregular disks.²⁴ Thus, in the presence of water, the stress resulting from compression is released from the granules and they regain their spherical shape, leading to a higher swelling in the direction where compression force was applied.

The rate of swelling of the tablets increased greatly with increasing temperature, which allows calculation of an activation energy associated with the swelling using the rate constant and the Arrhenius equation. The activation energy obtained for swelling along the radial direction is 46 ± 8 kJ/mol, and along the axial direction 40 ± 10 kJ/mol. These values are consistent with the potential energy of the hydrogen bonds (20 – 40 kJ/mol) implicated in the adhesion forces between the flattened powder particles.

The swelling data (Figure 3.5) were fitted to the following equation:

$$S = S_{\max} (1 - e^{-k_S t}) \quad 3.5$$

where S is the swelling at time t , S_{\max} is the maximum swelling at $t \rightarrow \infty$ and k_S is the rate of swelling. The extent of tablet swelling is affected by temperature. Between 25 and 45°C, there is no significant difference (Table 3.3), but swelling is more extensive at 60°C. This observation can be explained by the fact that between 25 and 45°C, the formation of the B-type double helixes limited swelling. However, at 60°C, the onset of gelatinization occurs and accounts for the more

extensive swelling observed. The crystallites in a starch granule are held together by hydrogen bonds between amylose and amylopectin and they are responsible for the structural integrity of the starch grain. At the gelatinization temperature, the hydrogen bonds weaken, leading to a complete loss in crystallinity which yields an ill-defined structure.¹⁰ The cross-linked starch at 60°C is poorly crystalline, and only the continuity of the B-double helix matrix limits tablet swelling. Thus, swelling at 60°C is more than twice as much as between 25 and 45°C.

Table 3.3. Swelling of the Chemically Modified Starch Tablets, Parameters Obtained with eq 3.5.

Temperature (°C)	NMR imaging				Mass uptake
	Axial		Radial		<i>k</i> (10 ⁻⁵ s ⁻¹)
	<i>S</i> _{max} (%)	<i>k</i> _S (10 ⁻⁵ s ⁻¹)	<i>S</i> _{max} (%)	<i>k</i> _S (10 ⁻⁵ s ⁻¹)	
25	41 ± 1	13 ± 2	11 ± 1	4.7 ± 0.7	6
37	44 ± 1	15 ± 2	15 ± 1	5.8 ± 0.8	18
45	45 ± 3	44 ± 3	14 ± 5	17 ± 4	25
60	98 ± 2	80 ± 10	41 ± 2	29 ± 4	30
<i>E</i> _a (kJ/mol)	40 ± 10		42 ± 8		40 ± 10

Tablets used in a previous study were cross-linked with 6% epichlorohydrin (instead of 0.075% phosphorus oxychloride as in this study). With a higher degree of cross-linking, the previous tablets actually swelled more rapidly and to a greater extent (at the same temperature) than the tablets studied here.^{17, 18} This may seem to be difficult to comprehend, but the greater extent of swelling for the starch derivatives with higher cross-linking is a known fact.²⁵ This was attributed to the fact that highly cross-linked starch can no longer rearrange into B-helices upon

hydration because of the limited mobility of the cross-linked polymer chains.^{4, 25} A lower degree of chemical cross-linking can allow the formation of the B-helices which actually limits the extent of swelling of the hydrogel and hinders the penetration of water. The diffusion coefficients of water measured by fitting the concentration profiles at the initial stage of immersion for the old and new tablets are quite similar (Table 3.4). After the gel membrane formation at the surface of the tablets, the diffusion coefficients of water measured on the previous tablets are slightly lower than the initial diffusion coefficients, whereas a large difference between the initial and final diffusion coefficients is observed with the new tablets (Table 3.4). In the previous tablets, the formation of the outer membrane was restricted by the higher degree of cross-linking which limited the chain movement and reorganization as discussed above. Therefore, a faster hydration of the tablet was observed.

Table 3.4. The Diffusion Coefficients of Water in the New and Previous Tablets during the Initial and Final Stages at Two Different Temperatures.

Tablets	Temperature (°C)	D (10^{-11} ms^{-1})	
		Initial	Final
Old (previous work ^{17, 18}) ^a	25	3.9	1.6
	37	5.4	1.8
New (this study) ^b	25	3.9	0.30
	37	7.0	0.56

^a Cross-linked with 6 wt % epichlorohydrin (wt % of dry starch).

^b Crosslinked with 0.075% phosphorus oxychloride.

3.4. Conclusion

NMR imaging has helped to provide information on the mechanism of diffusion and, the kinetics of swelling, and allows a better understanding of diverse phenomena involved in the chemically modified starch-based tablets. Tablet swelling showed anisotropy (a larger swelling in thickness than in diameter), whereas water penetration was almost isotropic (cf. Table 3.1). The swelling rate is dependent on the temperature, with a maximal swelling reached after 8 h at 25°C. Upon hydration, starch adopts a double helical conformation which acts as physical cross-links which in turn limits the swelling. Swelling of the starch tablets in water is limited until the system reaches the gelatinization temperature. The concentration gradients of the solvent can be measured by NMR imaging without the use of markers, which simplifies the characterization of the diffusion process. NMR imaging helps to distinguish between concentration-independent, concentration-dependent and non-Fickian diffusion. To fully describe the diffusion process observed here, a concentration-dependent investigation of the conformational changes occurring in the hydrated starch would be helpful.

3.5. References

1. Rigby, S.P., Van der Walle, C.F. et Raistrick, J.H., *Determining Drug Spatial Distribution Within Controlled Delivery Tablets Using MFX Imaging*. *J. Controlled Release*, **2004**. 96, 97-100.
2. Leonard, M., De Boissesson, M.R., Hubert, P., Dalencon, F. et Dellacherie, E., *Hydrophobically Modified Alginate Hydrogels as Protein Carriers with Specific Controlled Release Properties*. *J. Controlled Release*, **2004**. 98, 395-405.
3. Nunthanid, J., Laungtana-anan, M., Sriamornsak, P., Limmatvapirat, S., Puttipipatkachorn, S., Lim, L.Y. et Khor, E., *Characterization of Chitosan Acetate as a Binder for Sustained Release Tablets*. *J. Controlled Release*, **2004**. 99, 15-26.

4. Dumoulin, Y., Alex, S., Szabo, P., Cartilier, L. et Mateescu, M.A., *Crosslinked Amylose as Matrix for Drug Controlled Release. X-Ray and FT-IR Structural Analysis*. Carbohydr. Polym., **1998**. 37, 361-370.
5. Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., Mateescu, M.A., Cartilier, L. et Marchessault, R.H., *Crosslinked High Amylose Starch for Controlled Release of Drugs: Recent Advances*. J. Controlled Release, **1998**. 53, 225-234.
6. Lenaerts, V., Beck, R.H.F., Van Bogaert, E., Chouinard, F., Hopcke, R. et Desevaux, C., *Crosslinked High Amylose Starch Having Functional Groups as a Matrix for the Slow Release of Pharmaceutical Agents*. U.S. Patent 6,607,748, **2003**.
7. Mulhbacher, J., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M.A., *Cross-Linked High Amylose Starch Derivatives for Drug Release. II. Swelling Properties and Mechanistic Study*. Int. J. Pharm., **2004**. 278, 231-238.
8. Pohja, S., Suihko, E., Vidgren, M., Paronen, P. et Ketolainen, J., *Starch Acetate as a Tablet Matrix for Sustained Drug Release*. J. Controlled Release, **2004**. 94, 293-302.
9. Park, K. et Mersny, R.J., *Controlled Drug Delivery: Designing Technologies for the Future*. ACS Symp. Ser. **2000**, New York, Oxford University Press.
10. Whistler, R.L., BeMiller, J.N. et Paschall, E.F., *Starch : Chemistry and Technology*. 2e ed. **1984**, Orlando, Academic Press.
11. Kost, J. et Shefer, S., *Chemically-Modified Polysaccharides for Enzymatically-Controlled Oral Drug Delivery*. Biomaterials, **1990**. 11, 695-698.
12. Bussemer, T., Peppas, N.A. et Bodmeier, R., *Evaluation of the Swelling, Hydration and Rupturing Properties of the Swelling Layer of a Rupturable Pulsatile Drug Delivery System*. Eur. J. Pharm. Biopharm., **2003**. 56, 261-270.
13. Colombo, P., Bettini, R., Santi, P. et Peppas, N.A., *Swellable Matrixes for Controlled Drug Delivery: Gel-Layer Behavior, Mechanisms and Optimal Performance*. Pharmaceutical Science & Technology Today, **2000**. 3, 198-204.
14. Kazarian, S.G. et Chan, K.L.A., *"Chemical Photography" of Drug Release*. Macromolecules, **2003**. 36, 9866-9872.

15. Peng, Y., Wu, P. et Siesler, H.W., *Two-Dimensional/ATR Infrared Correlation Spectroscopic Study on Water Diffusion in a Poly(ϵ -caprolactone) Matrix*. *Biomacromolecules*, **2003**. 4, 1041-1044.
16. Fyfe, C.A. et Blazek-Welsh, A.I., *Quantitative NMR Imaging Study of the Mechanism of Drug Release from Swelling Hydroxypropyl Me Cellulose Tablets*. *J. Controlled Release*, **2000**. 68, 313-333.
17. Baille, W.E., Malveau, C., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 1. Swelling and Water Uptake*. *Biomacromolecules*, **2002**. 3, 214-218.
18. Malveau, C., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 2. Effect of Tablet Size*. *Biomacromolecules*, **2002**. 3, 1249-1254.
19. Chowdhury, M.A., Hill, D.J.T. et Whittaker, A.K., *NMR Imaging of the Diffusion of Water at 37°C into Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Containing Aspirin or Vitamin B₁₂*. *Biomacromolecules*, **2004**. 5, 971-976.
20. George, K.A., Wentrup-Byrne, E., Hill, D.J.T. et Whittaker, A.K., *Investigation into the Diffusion of Water into HEMA-co-MOEP Hydrogels*. *Biomacromolecules*, **2004**. 5, 1194-1199.
21. Kowalczyk, J., Tritt-Goc, J. et Pislewski, N., *The Swelling Properties of Hydroxypropyl Methyl Cellulose Loaded with Tetracycline Hydrochloride: Magnetic Resonance Imaging Study*. *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, **2004**. 25, 35-41.
22. Rahmouni, M., Lenaerts, V., Massuelle, D., Doelker, E. et Leroux, J.-C., *Influence of Physical Parameters and Lubricants on the Compaction Properties of Granulated and Non-Granulated Cross-Linked High Amylose Starch*. *Chem. Pharm. Bull.*, **2002**. 50, 1155-1162.
23. Ravenelle, F., Marchessault, R.H., Legare, A. et Buschmann, M.D., *Mechanical Properties and Structure of Swollen Crosslinked High Amylose Starch Tablets*. *Carbohydr. Polym.*, **2001**. 47, 259-266.
24. Le Bail, P., Morin, F.G. et Marchessault, R.H., *Characterization of a Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. *Int. J. Biol. Macromol.*, **1999**. 26, 193-200.
25. Moussa, I.S. et Cartilier, L.H., *Characterization of Moving Fronts in Crosslinked Amylose Matrixes by Image Analysis*. *J. Controlled Release*, **1996**. 42, 47-55.
26. Crank, J., *The Mathematics of Diffusion*. 2e ed. **1979**, Oxford, Clarendon Press.

27. Frisch, H.L., *Sorption and Transport in Glassy-Polymers*. Polym. Eng. Sci., **1980**. 20, 2-13.
28. Hopfenberg, H.B. et Frisch, H.L., *Transport of Organic Micromolecules in Amorphous Polymers*. J. Polym. Sci. Pol. Lett., **1969**. 7, 405-409.
29. Crank, J. et Park, G.S., *Diffusion in Polymers*. **1968**, London, Academic Press.
30. Shiftan, D., Ravenelle, F., Mateescu, M.A. et Marchessault, R.H., *Change in the V/B Polymorph Ratio and T_1 Relaxation of Epichlorohydrin Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. Starch, **2000**. 52, 186-195.

Chapitre 4 : Effet de la présence de principes actifs sur la diffusion de l'eau et la formation de la membrane de gel dans des comprimés d'amidon modifié*

Cross-linked high amylose starch is used as an excipient in the preparation of pharmaceutical tablets for the sustained release of drugs. NMR imaging with contrast enhanced by proton density and by self-diffusion coefficient was used to follow the water uptake and swelling, two critical parameters controlling the drug release of the cross-linked starch tablets containing 10 wt % of ciprofloxacin and of acetaminophen, respectively. The drug-loaded tablets were studied in a H₂O/D₂O mixture at 37°C in comparison to the tablets without any drug loading. The diffusion of water in the tablets all showed a Fickian behavior, but the kinetics of water uptake was faster in the case of the drug-loaded tablets. The formation of a membrane at the water/tablet interface was observed.

4.1. Introduction

Cross-linked high-amylose starches are used as hydrophilic matrices for the sustained release of drugs¹⁻⁴ in the form of tablets^{3, 5} and implants⁶⁻⁸ capable of controlling the release over a time scale from days to months. The use of starch in controlled-release systems is attractive because of its safety aspects. The main

* Thérien-Aubin, H., Zhu, X. X., Ravenelle, F., et Marchessault, R. H., *Membrane Formation and Drug Loading Effects in High Amylose Starch Tablets Studied by NMR Imaging*, Biomacromolecules, 2008, sous presse, 10.1021/bm701256z.

advantages of this type of system over other hydrophilic polysaccharides excipients reside in its limited erosion^{9,10} and its restricted swelling.^{2,4,9-11}

The restricted swelling is ascribed to the retrogradation of the starch molecule chains into their double helical structure.⁹ The starch retrogradation was evidenced by ¹³C CP/MAS spectroscopy,¹²⁻¹⁴ the hydration of the tablet led to the formation of B-type double helices conformation thereby creating new physical cross-linking points leading to the formation of an extended three-dimensional network in the wet tablets. The viscoelastic properties of the tablet show that the hydrated tablets behave as one poroelastic network.¹⁵

Starch retrogradation in B-type double helices leads to the fusion of the starch particles into a highly hydrated membrane at the water/tablet interface. This membrane has a low porosity as observed by electron microscopy and X-ray microtomography.^{12,16} This membrane increases the stiffness of the swollen tablet³ and hinders the swelling of the starch particles in the core of the tablet.¹⁰ Furthermore, the membrane blocks the erosive effect of the amylase enzymes thereby preserving the shape and integrity of the tablets.⁹ This membrane does not propagate to the core of the tablet which retains a coarse particulate texture.¹⁶ It is believed that the membrane also contributes to the sustained release by limiting the water flow.^{9,10} However, the effect of the membrane on the diffusive process must be further investigate to understand how the membrane affects diffusion.

To increase the effectiveness of pharmaceutical formulations, the process of water diffusion and drug release must be better understood. A fundamental understanding of such modified starch excipients and of the mechanism controlling the drug release could lead to the optimization of controlled-release formulations in the development of new pharmaceutical tablets. Imaging techniques have been widely used during water uptake to investigate changes in tablets made of different excipients, including the cross-linked high-amylose

starch (CHAS) studied in this paper.^{11, 17-19} Among these techniques, NMR imaging is of particular interest²⁰⁻²³ because of its noninvasive and nondestructive nature which allows the study of both swelling and water uptake of a tablet *in situ*; without physical slicing. The variations in the pharmaceutical devices, caused by the water uptake, could be observed as changes in concentration,²⁴⁻³⁰ relaxation time,^{24, 26, 31} or self-diffusion coefficient.³¹⁻³⁴ Previously, the effect of the drug molecules in CHAS tablets on water uptake in the NMR imaging studies has been neglected. In this study, NMR imaging in proton density was used to follow the water uptake and the swelling of the CHAS tablets in the presence of drugs, while NMR imaging enhanced by differences in self-diffusion coefficients was used to investigate the effect of the membrane formation at the water/tablet interface.

4.2. Experimental section

4.2.1. Tablet Preparation

The high amylose starch (70% amylose) used in the preparation of the CHAS tablets for this study was prepared according to a patented procedure.³ High-amylose starch was cross-linked with 0.075 wt % of phosphorus oxychloride in an mild alkaline medium. Then, the cross-linked starch granules were further functionalized with 6 wt % of propylene oxide followed by washing and drying. The last step involves gelatinization of the starch under high temperature (160°C) and pressure (5.5 bar) conditions immediately prior to spray-drying. This CHAS-based technology is supplied by Labopharm (Laval, QC, Canada) under the trademark Contramid. For drug-loaded tablets, CHAS was mixed with 10 wt % of ciprofloxacin (molecular weight (*MW*) 331 g/mol, hydrodynamic radius (*R_h*) 0.65 nm) or acetaminophen (Compap) (*MW* 151 g/mol, *R_h* 0.37 nm). Tablets were compressed to disks of about 8.8 × 3.0 mm.

4.2.2. NMR Imaging Experiments

All NMR imaging experiments were carried out at 37.0°C on a Bruker Avance-400 NMR spectrometer operating at a frequency of 400.26 MHz for protons equipped with a micro-imaging probe having a 30 mm inner diameter. The system was also equipped with three orthogonal field gradient coils permitting a maximum gradient of 100 G/cm in each direction. A standard spin-echo pulse sequence was used to obtain spin density images of the tablets in a 15 mm o.d. NMR tube containing 20 mL of a 1:1 mixture of H₂O and D₂O. A slice of 0.5 mm in thickness was selected either perpendicular or parallel to the main magnetic field (axial axis) using a sinc-shaped pulse. Eight scans were accumulated to obtain 128×128 pixels images for a field of view of 1.5 cm, leading to an in-plane resolution of 117 μm. An echo-time (TE) of 3 ms and a repetition-time (TR) of 1 s were fixed leading to an acquisition time of about 17 minutes for each image.

The intensity of the NMR images could be made dependent on the self-diffusion coefficient by combining the spin-echo pulse sequence with the pulsed-gradient spin-echo pulse sequence (PGSE) developed by Stejskal.³⁵ The echo time, equal to the diffusion time (Δ), is set to 10 ms in order to achieve enough attenuation of the signal. The length of the gradient pulse (δ) used in the PGSE sequence was 2 ms, and the gradient strength varied from 5 to 100 G/cm.

Since a mixture of H₂O and D₂O is used as solvent, the diffusing species in starch is rather a mixture of H₂O and HOD than water. In the discussion, they are all generalized as the diffusion of water without making further distinction about the diffusing species. Even though further exchange of deuterium with protons of the starch sample may take place, verifications of the exchange effect, by performing measurements in pure H₂O and in pure D₂O, indicate that the results did not show any significant differences within experimental error.

4.2.3. Drug Release Experiments

Drug release was measured from tablets immersed in 100 mL of water at 37°C in a shaking bath under low agitation. Drug concentrations were assayed on a Cary 300 UV-vis spectrophotometer at 272 nm for ciprofloxacin and 243 nm for acetaminophen.

4.3. Results and Discussion

During the water uptake by the tablets, different regions in the polymer system can be observed.²⁷⁻²⁹ With increasing immersion time, the water content in the middle of the tablets increases as noticed by the reduction of the dry area (purple region in (Figure 4.1)). All three kinds of tablets showed the formation of a highly hydrated membrane at the water/tablet interface. Swelling with shape retention of the tablets is observed for the tablets both with and without drug loading. After swelling and membrane formation, water continues to diffuse inside the tablet until the gelation of the whole tablet.

4.3.1. Swelling of the Tablets

During immersion in water, tablet sizes change (Figure 4.2) due to the relaxation and reorganization of the starch chains. The variation of the tablet dimension is described by the percentage of swelling defined as

$$S(t) = \frac{d(t) - d_0}{d_0} \times 100 \quad 4.1$$

where $S(t)$ is the percentage of swelling at immersion time t , $d(t)$ the dimension (either thickness or diameter) of the tablet at immersion time t , and d_0 the initial

dimension of the tablet. The swelling data are fitted to

$$S(t) = S_{\max} (1 - e^{-k_s t}) \quad 4.2$$

where S_{\max} is the swelling at equilibrium, and k_s the rate constant of the swelling process.

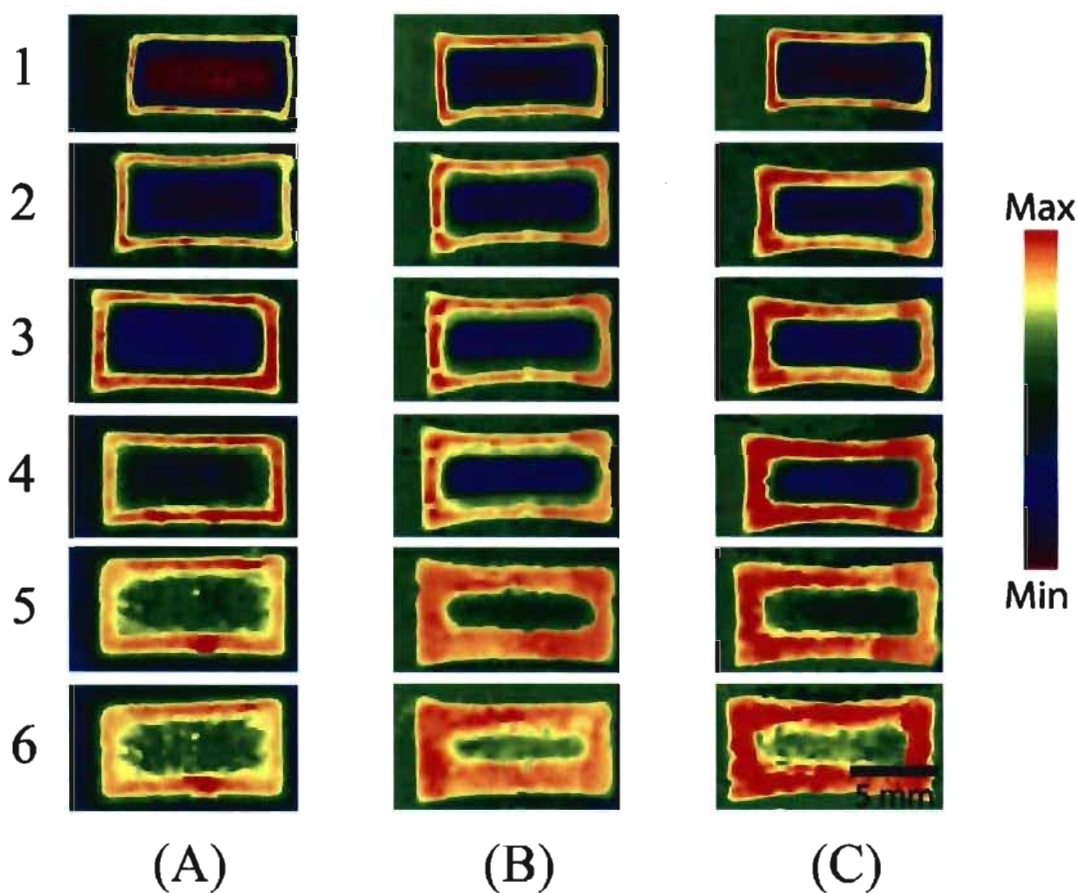


Figure 4.1. NMR ^1H intensity images of CHAS tablets during water absorption at 37°C at different immersion times. (A) CHAS tablets without drug (A1) 5 min, (A2) 2 h (A3) 10 h, (A4) 50 h, (A5) 100 h, (A6) 150 h. (B) Tablets loaded with 10 % ciprofloxacin (B1) 12 min, (B2) 2 h, (B3) 3 h, (B4) 5 h, (B5) 20 h, (B6) 40 h. (C) Tablets loaded with 10 % acetaminophen (C1) 10 min, (C2) 2 h, (C3) 3 h, (C4) 5 h, (C5) 20 h, (C6) 40 h.

For the three types of tablets studied, no degradation or dissolution of the tablet is observed. This is characteristic of the CHAS tablets as opposed to other polysaccharide excipients such as microcrystalline cellulose.³⁶ The restricted swelling leading to shape retention by the tablet is mainly ascribed to the rearrangement of the starch chains.^{2, 12-14} As observed by ¹³C CP-MAS NMR spectroscopy, starch in dry CHAS powder has a semicrystalline structure mainly composed of V-type single helices and amorphous regions with only traces of B-type double helices.¹⁴ Upon hydration there is a conversion of the amorphous parts and/or V-type helices to B-type helices.^{2, 12-14} The double helical structure acts as new pseudo-cross-linking points which limit the swelling of the tablet. The presence of incorporated drugs does not significantly affect the maximal swelling and the swelling rate of the tablets (Table 4.1). The drug loading at 10 wt % in the CHAS tablets does not appear to interfere with the formation of double helices and the efficiency of the network formed.

In all of the tablets studied, a larger swelling in thickness than in diameter is observed (Figure 4.2.B), since in the tablet fabrication process the compression force is applied to the CHAS powder along the axial direction.¹² The starch granules are then deformed and the stress is released upon hydration leading to a higher swelling observed in the axial direction.

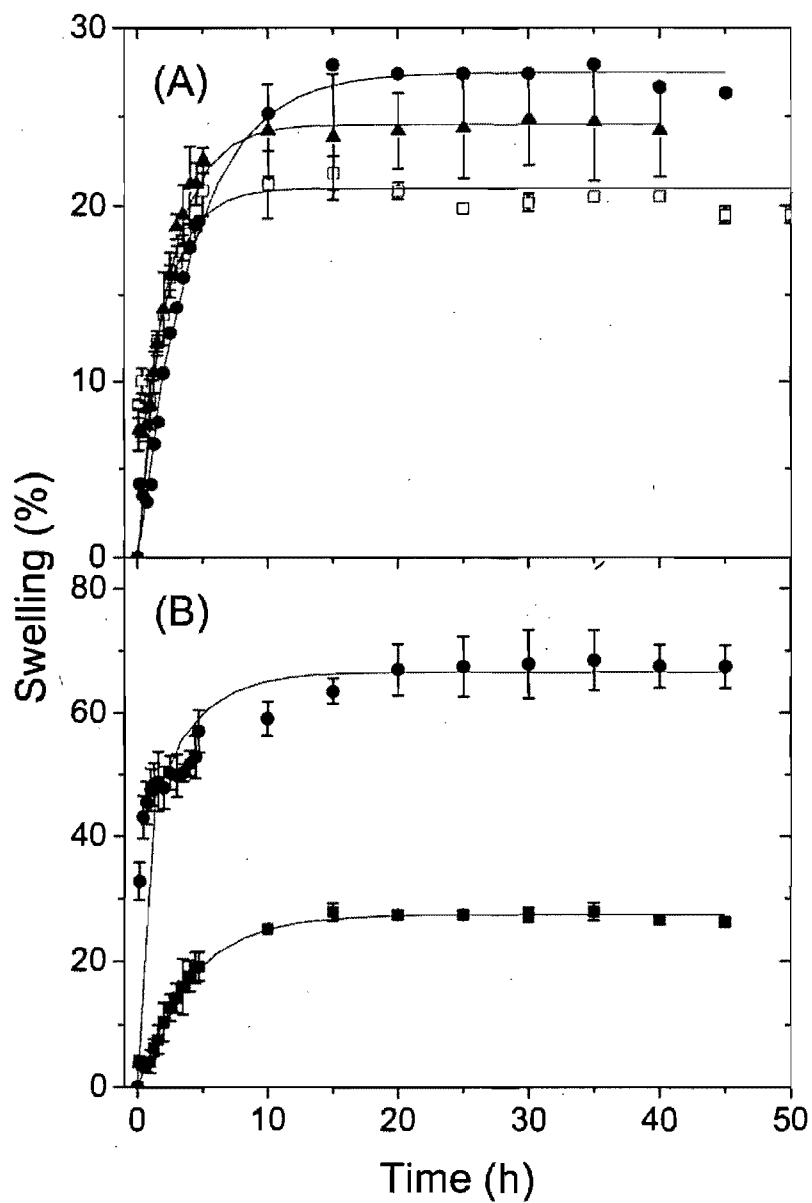


Figure 4.2. Swelling kinetics of the CHAS tablets. (A) Swelling along the radial direction for CHAS tablet (□) without drugs, (●) loaded with 10% acetaminophen, and (▲) loaded with 10% ciprofloxacin. (B) Comparison of the swelling kinetics along (●) the radial direction and (⊗) the axial direction for tablets loaded with 10% acetaminophen. Lines are fits to eq. 4.2.

Table 4.1. Swelling, water diffusion coefficient and uptake kinetic of the CHAS tablets in 1:1 mixture of H₂O/D₂O at 37°C.

Loading	Swelling				Diffusion			
	Radial direction		Axial direction		¹ H signal integration		Water concentration profile fit	
	S _{max} (%)	k _s (min ⁻¹)	S _{max} (%)	k _s (min ⁻¹)	\bar{D} (10 ⁻¹¹ m ² /s)	n	Immersion time	
							30 min	1 h
							D (10 ⁻¹¹ m ² /s)	
0 %	20 ± 2	0.009 ± 0.001	55 ± 3	0.011 ± 0.002	2.0 ± 0.3	0.4 ± 0.1	6.3 ± 0.4	3.9 ± 0.3
10 % Acetaminophen	27 ± 3	0.005 ± 0.001	62 ± 6	0.007 ± 0.003	3.9 ± 0.2	0.54 ± 0.06	7.2 ± 0.5	4.6 ± 0.3
10 % Ciprofloxacin	24 ± 2	0.006 ± 0.001	54 ± 3	0.008 ± 0.002	6.1 ± 0.5	0.49 ± 0.07	8.1 ± 0.6	5.6 ± 0.5
10 % Ciprofloxacin*	22 ± 2	0.007 ± 0.001	52 ± 4	0.008 ± 0.002	5.3 ± 0.4	0.44 ± 0.06	7.3 ± 0.8	5.4 ± 0.8

*These experiments were performed in a 0.03 g/mL solution of ciprofloxacin in H₂O/D₂O

** The reported errors are standard deviation measured on triplicates

4.3.2. Diffusion Process

Alfrey³⁷ suggests to classify the solvent diffusion processes in polymer matrices according to the relation between the amount of solvent having diffused and the diffusion time as

$$\frac{M}{M_{\infty}} = k_d t^n + M_0 \quad 4.3$$

where M is the amount of solvent having diffused after an immersion time t , M_0 the amount of solvent present in the polymer matrix before the immersion in the solvent, M_{∞} the amount of solvent in the polymer matrix at the equilibrium, and k_d a parameter related to the velocity or to the diffusion. The parameter n describes the kinetics of the solvent uptake and is equal to 0.5 for Fickian diffusion and to 1 for Case II diffusion. Intermediate values of n indicate an anomalous diffusion process. These values of n are for diffusion in a sheet, geometrical variations alter these values.^{38, 39} In a tablet, according to the diameter to thickness ratio, the parameter n will vary between 0.46 and 0.50 for Fickian diffusion.³⁸ When the diffusion is Fickian, the parameter k_d could be used to measure the average diffusion coefficient (\bar{D}). For solvent uptake by a cylindrical polymer sample of radius (r), the diffusion coefficient is given by⁴⁰

$$\bar{D} = \left(\frac{k_d \pi r}{4} \right)^2 \quad 4.4$$

Typically, gravimetric measurements are used to analyze the type of diffusion process which is characterized by the solvent penetration in a polymer matrix. However, in some polymer systems, the gravimetric measurement of solvent uptake is challenging, especially if dissolution or disintegration of the polymer matrix occurs. In the case of CHAS tablets, erosion may become significant when the tablet is manipulated and may lead to inaccurate weight gain

measurements.^{28, 29} The NMR images of the tablets at different immersion times are obtained without agitation or other mechanical perturbations causing the abrasion of the tablet. Therefore, they can be used to quantify the water uptake. The NMR signal is proportional to the relative concentration of the solvent; therefore the amount of solvent having diffused into the tablet can be evaluated with the NMR images. The relative solvent uptake is measured by the integration of the solvent signal in the tablet.

Figure 4.3 shows that, for tablets with 0 and 10 % drug loading, solvent uptake follows a Fickian behaviour; i.e., a linear relationship between uptake and the square root of time in the first stage of the solvent uptake process is observed. This shows that even before immersion of the tablet in water, some water is present in the CHAS tablet. The initial moisture content of the tablet comes from adsorbed water in starch.³ Figure 4.3 also clearly demonstrates that, as observed in other polymer systems,⁴¹ the mean diffusion coefficient of water in the drug-loaded tablets is higher than that in the plain CHAS tablets (Table 4.1). The faster water uptake in the drug-loaded tablets is mainly associated with the higher gradient of chemical potential at the interface created by the presence of drug molecules in the tablet. When ciprofloxacin is added to the water, a decrease in the rate of solvent uptake is observed (Figure 4.3) which indicates the importance of the gradient of chemical potential. The difference in water uptake between the ciprofloxacin- and acetaminophen-loaded tablets could be ascribed to the difference in water solubility of the two drugs, ciprofloxacin being more soluble (3.5 g/100 mL) than acetaminophen (1.4 g/100 mL).

Fickian diffusion is observed for water in the tablets studied in all cases. Therefore, Fick's second law of diffusion can be used to determine the diffusion coefficient of water from the water concentration profile in the tablet obtained by NMR imaging.²⁹ The analytical solution of Fick's second law of diffusion in a system of the shape of an infinite cylinder is given by⁴²

$$\frac{C - C_0}{C_\infty - C_0} = 1 - \frac{2}{r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{J_0(x\alpha_n)}{\alpha_n J_1(r\alpha_n)} e^{-D\alpha_n^2 t} \quad 4.5$$

where C is the concentration of water after an immersion time t and at a position x inside the tablet, C_0 is the initial concentration of water in the tablet, C_∞ the concentration of water at equilibrium, r the radius of the tablet, α_n the n^{th} root of $J_0(r\alpha_n)=0$, J_0 the Bessel function of the first kind of order 0 and J_1 the Bessel function of the first kind of order 1.

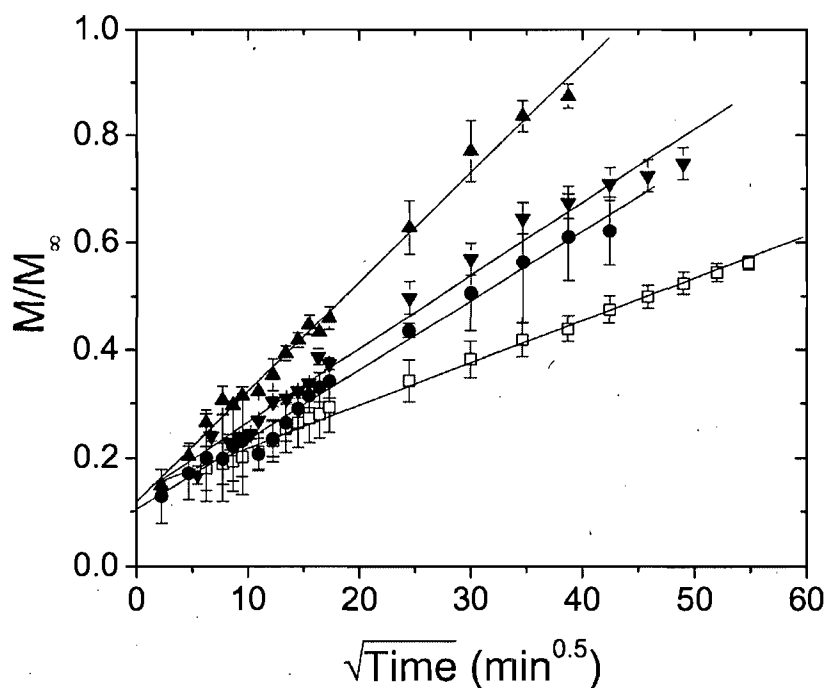


Figure 4.3. Solvent uptake kinetics of the CHAS tablets in a 1:1 $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ mixture obtained from the NMR ^1H signal integration. Tablets (\square) without drug, (\bullet) with 10% acetaminophen, (\blacktriangle) with 10% ciprofloxacin, and (\blacktriangledown) 10% ciprofloxacin tablet in a 0.03 g/mL solution of ciprofloxacin. Lines are linear regression fits to eq 4.3.

For eq 4.5, we assume a constant size of the tablet and a constant diffusion coefficient everywhere inside the tablets and throughout the experiment. We have previously shown that even if the maximal swelling and the swelling kinetics are different along the axial and radial direction, the values of the diffusion coefficient along both axes show the same trend and their difference is smaller than the experimental error.²⁹ Therefore, swelling should not contribute significantly to the values of diffusion coefficient obtained for CHAS tablets. Furthermore, eq 4.5 is only used for the first 60 minutes following the tablet immersion; this allows disregarding both the swelling and the edge effects. In this interval, the radial swelling is limited to less than 9 %. In the first stage of immersion, while the hydration of the tablet is limited, the edge effects are minimal in the center of the tablet, and the tablet might be considered as an infinite cylinder to simplify the solution of the Fick law to eq 4.5.

The diffusion coefficient measured from fits of eq 4.5 to the water concentration profile (data not shown) after 30 minutes of hydration are on average twice those obtained from the water uptake measurements with eq 4.4 (Table 4.1). In addition, the diffusion coefficients obtained from fits of eq 4.5 decrease with increased immersion time. Equation 4.4 provides the average diffusion coefficient of the water uptake process as a whole, whereas eq 4.5 gives an instantaneous diffusion coefficient. In eq 4.5, the diffusion coefficient should be constant in time and space, but this is not the case as shown in Table 4.1. The dependence of water diffusion coefficient was also observed in other starch-based systems.⁴³ In starch films, water diffusion coefficient was shown to increase exponentially with the water concentration due to plastization of the sample.⁴³ In the tablets studied here, the decrease of the diffusion coefficient observed with immersion time is attributed to conformational and accessibility changes of the starch chains. Strictly speaking, the use of eq 4.5 is not appropriate any more to obtain quantitative diffusion coefficients since it does not take into account the

possible variation of D , but the trends observed remain valid. The results clearly demonstrate that as the membrane is formed at the water/tablet interface, a decrease in the diffusion coefficient is observed. This membrane is believed to be responsible for the sustained drug release in CHAS tablets by regulating the diffusion of the drug molecules. The presence of drugs in tablets increases the diffusion coefficient of water in the tablet which is in keeping with the faster water uptake observed.

4.3.3. Self-diffusion Coefficient Imaging

To further characterize the membrane, the difference in the self-diffusion coefficients is exploited in the NMR imaging technique to enhance the contrast of the images. Figure 4.4 shows the typical images with contrast enhanced by the differences in self-diffusion coefficients. Four different regions can be observed in these images, the free water outside the tablet, which has a higher self-diffusion coefficient (green part), and the dry part of the tablet, which has a very low self-diffusion coefficient (purple part). In the highly hydrated membrane, the self-diffusion coefficient is almost constant (light blue part), and in the interfacial region between the free water and the tablet, the self-diffusion coefficient changes abruptly. The self-diffusion coefficients measured are isotropic and independent of the direction of the applied gradient pulses in the PGSE sequence (along either the radial or axial direction of the tablet).

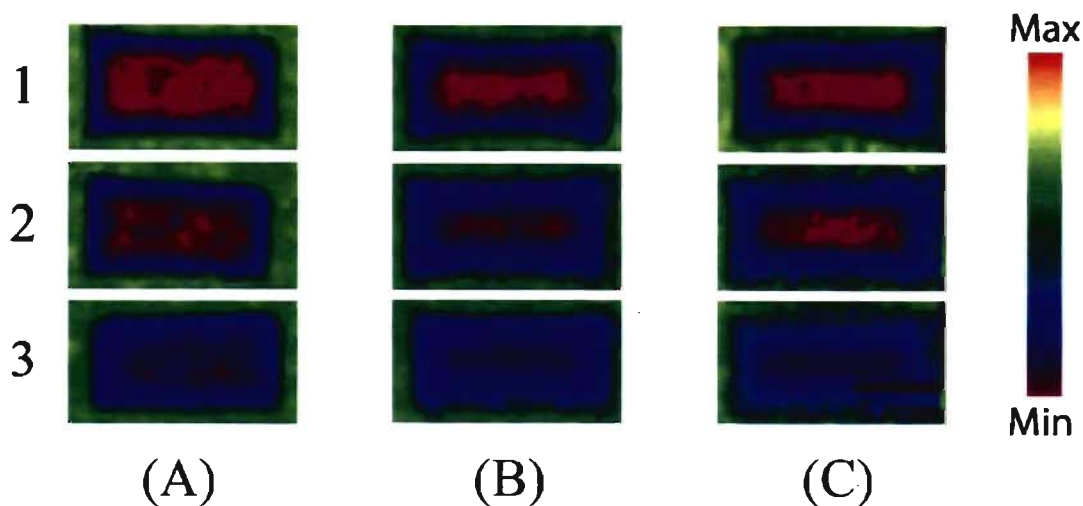


Figure 4.4. NMR self-diffusion coefficient images of CHAS tablets during water absorption at 37°C at different immersion time. (A) CHAS tablets without drug (A1) 10 h, (A2) 50 h (A3) 100 h. (B) Tablets loaded with 10 % ciprofloxacin (B1) 5 h, (B2) 10 h, (B3) 40 h. (C) Tablets loaded with 10 % acetaminophen (C1) 5 h, (C2) 20 h, (C3) 40 h.

From these self-diffusion coefficient images in conjunction with the water concentration images, it is possible to follow the changes in both the water concentration and the water mobility at a given point in the tablet. As expected, Figure 4.5.A shows that the water concentration in the middle of the CHAS tablet increases with the immersion time. The self-diffusion coefficient in the middle of the tablet (Figure 4.5.B) also increases with the immersion time. It is also possible to obtain the relationship between the self-diffusion coefficient and the concentration of water. Figure 4.6.A shows that at a different area in the same tablet the relationship between the mobility and concentration of water is the same whether the observations are made at the interfacial membrane or not. On the scale of the water molecule, the membrane structure is equivalent to that of the inner core of the tablet. However, it is possible that a larger molecular probe than water would have shown differences between the two regions.

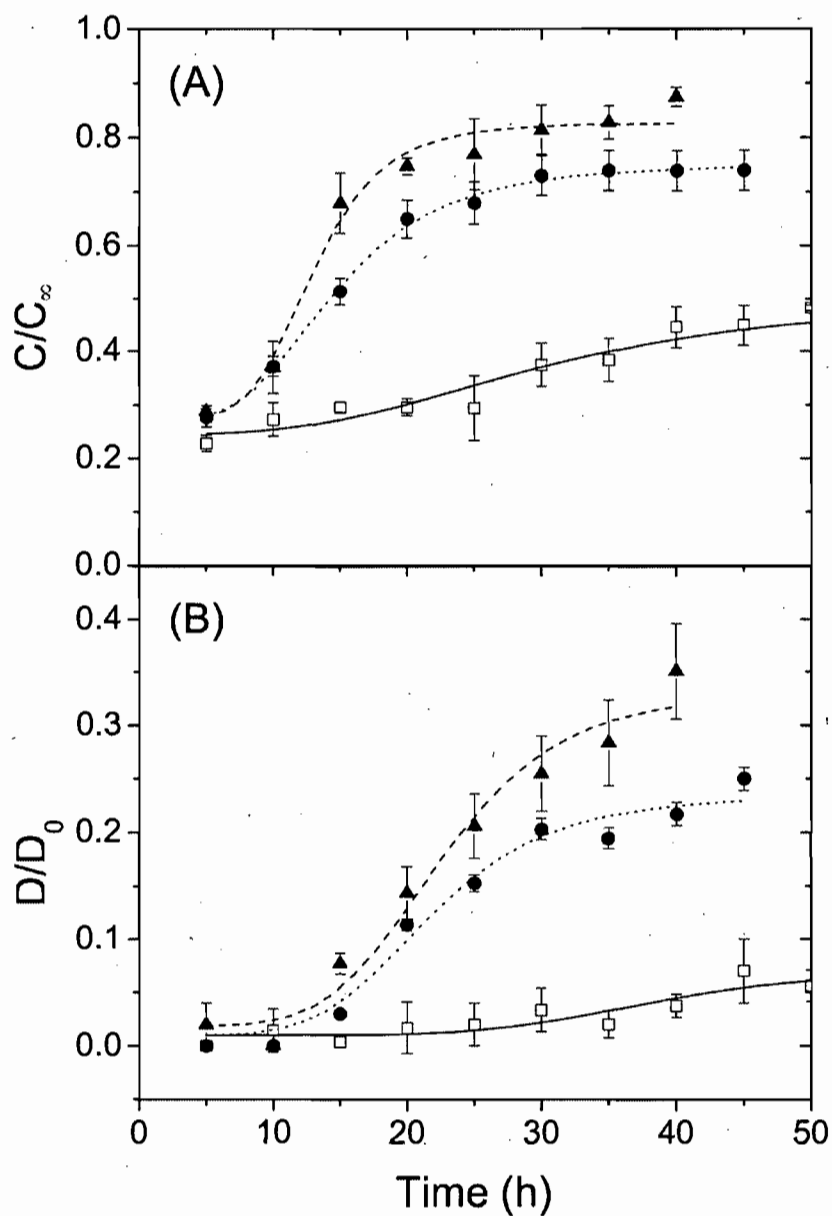


Figure 4.5. Variation of (A) water concentration and (B) self-diffusion coefficient of water in the middle of the (\square) pure CHAS tablets, and those loaded (\bullet) with 10% acetaminophen and (\blacktriangle) with 10% ciprofloxacin. Lines are drawn only as a visual guide.

The polymer concentration at water uptake equilibrium (200 hours) was obtained by measuring the weight loss when lyophilizing the swollen tablets; the final polymer concentration is an average of 23 ± 4 wt % in the three types of tablets. With this value, it is possible to transform the normalized water concentration to the polymer concentration; the self-diffusion coefficient varies as a function of the resulting polymer concentration as described in many polymer systems⁴⁴ for equilibrated gels and polymer solutions (Figure 4.6.B). The mobility of water is strongly dependent on the water concentration but not on the type of tablet, suggesting that a drug loading of 10 wt % does not influence the structure of the CHAS network formed upon hydration. This is in keeping with the observations made with the equivalent extent of swelling for the three types of tablets.

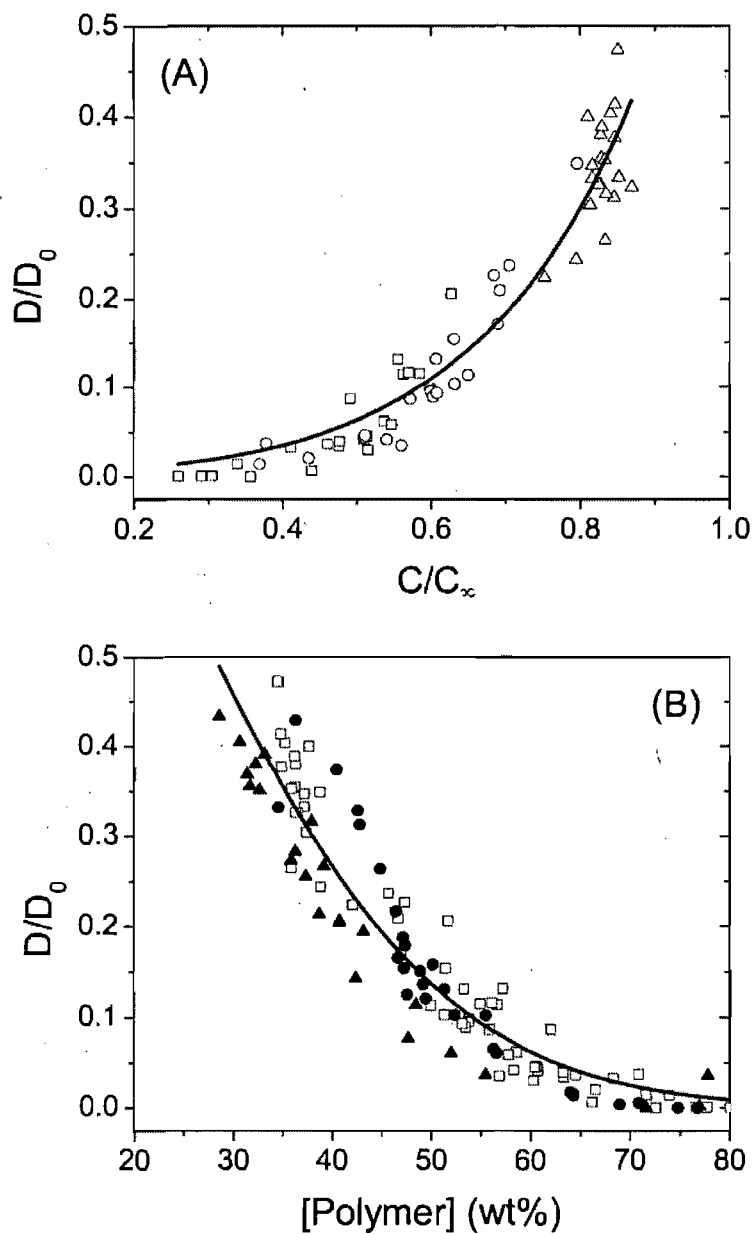


Figure 4.6. Effect of the hydration of the CHAS on the reduced self-diffusion coefficient of water. (A) Influence of the observed part of the CHAS tablet (\square) 1/4, (\circ) 1/8 and (\triangle) 1/16 (in the membrane) for tablets without drug loading. (B) Variation of the reduced self-diffusion coefficient of water as a function of the polymer concentration for CHAS tablet (\square) without drug, (\bullet) loaded with 10% acetaminophen and (\blacktriangle) loaded with 10% ciprofloxacin. Lines are drawn only as a visual guide.

4.3.4. Membrane formation

Electron microscopy and X-ray microtomography show that the interfacial membrane and the core of the tablet have a very different structure,^{12, 16} leading to different behaviors and properties which could be treated independently. The membrane at the water/tablet interface is essential to the tablet integrity and to the sustained release of drugs with the CHAS tablets. It was shown that, upon immersion in water, the stiffness of the tablet increases with time.³ The formation of the membrane can be followed with the NMR images adjusted with either proton density or self-diffusion coefficient contrast. The proposed mechanism of membrane formation in CHAS tablets is based on the reorganization and retrogradation of the starch chains,⁹ which also contribute to the restricted swelling of the tablets. Upon immersion in water, the tablet swells and the starch chains retrograde, forming a low porosity gel.¹⁶ The limited water diffusion through this membrane restricts the amount of water for the retrogradation of the tablet core. X-ray tomography experiments have shown that the porosity of the outer part of a CHAS tablet immersed in water for 24 hours is smaller or equal to the porosity of the tablet in the dry state. However, the porosity in the partially dry core of the hydrated tablet is increased by a factor two.¹⁶

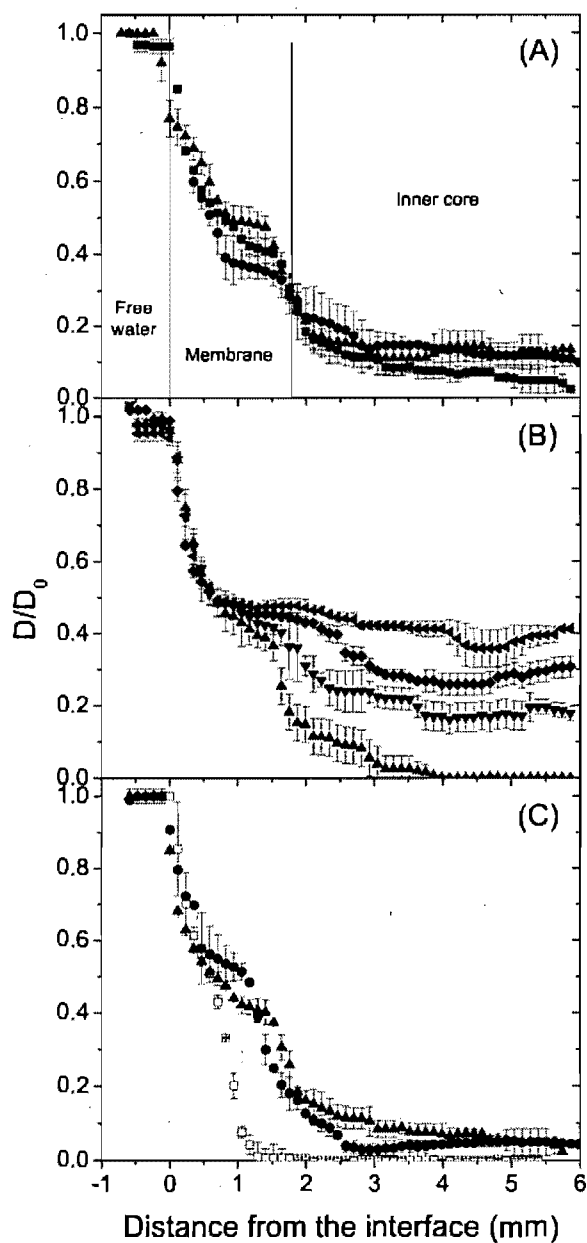


Figure 4.7. Self-diffusion coefficient profile in the center of the tablet for (A) three CHAS tablets loaded with ciprofloxacin after 15 hours of immersion; (B) tablets loaded with ciprofloxacin after (\blacktriangle) 10, (\blacktriangledown) 20, (\blacklozenge) 30 and (\blacktriangleleft) 40 hours of immersion; (C) CHAS tablet (\square) without drug, (\bullet) loaded with 10% acetaminophen and (\blacktriangle) loaded with 10% ciprofloxacin after 15 hours of immersion.

It is difficult to have a clear distinction between the membrane and the core regions. However, the different regions of the tablets are more obvious on the self-diffusion coefficient profile extracted at the center of the tablet as shown in Figure 4.7 than in the water concentration profile. For the quantitative measurements of the membrane thickness in the self-diffusion coefficient profile, the water/ tablet interface was set at the break point between the steady self-diffusion coefficient of free water and the sharp decrease in self-diffusion coefficient caused by the presence of the polymer. The interior limit of the membrane was set as the inflection point of the self-diffusion coefficient profile inside the tablet. In comparison with water proton density imaging, the self-diffusion coefficient NMR imaging allows an easier and more exact determination of the membrane thickness because of the larger variations in self-diffusion coefficients which increase exponentially with increasing water concentration (Figure 4.6.B). In the spin density images, the membrane was defined as the region where the water signal is higher than 80% of the maximal water signal in the tablet.

Figure 4.7 shows typical self-diffusion coefficient profiles obtained in CHAS tablets. On average, the self-diffusion coefficient of water in the tablet is reduced by half in comparison to the self-diffusion coefficient of free water (D_0). With increasing immersion time, the region of the tablet with a maximal self-diffusion coefficient becomes thicker and progresses toward the center of the tablet (Figure 4.7.B). The membrane is defined as the region where the self-diffusion coefficient of water in the tablet is at its highest value. At the same immersion time, this region is wider in the drug-loaded tablets than in the plain CHAS tablets (Figure 4.7.C). However, the same maximal self-diffusion coefficient ($\sim 0.5 D_0$) is observed in the different tablets.

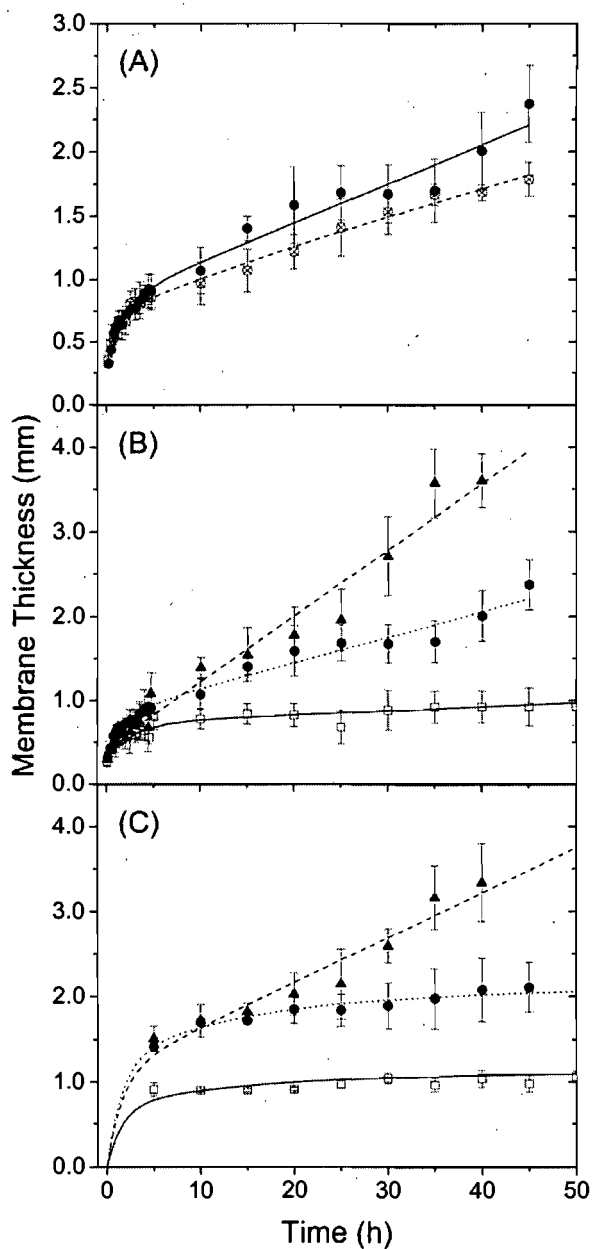


Figure 4.8. Thickness of the membrane at the water/tablet interface as measured with the water concentration profile (A and B) and with the self-diffusion coefficient profile (C). (A) Influence of the observation axis on tablets loaded with 10% acetaminophen tablets (●) radial direction and (⊗) axial direction. (B) and (C) Influence of the drug loading of CHAS tablet (□) without drug, (●) loaded with 10% acetaminophen and (▲) loaded with 10% ciprofloxacin. Lines are drawn only as a visual guide.

Figure 4.8.A shows that the extent of the swelling of the tablet does not greatly influence the formation of the membrane at the water/tablet interface since the membrane formation along both axes of the tablet proceeds at the same rate and the thickness of the membrane formed is the same. However, the thickness of the membrane is modified by the presence of a drug in the tablets (Figure 4.8.B). In the case of tablets without drugs, the membrane forms rapidly upon wetting and reaches equilibrium in the first hours of hydration. The thickness then remains constant for over 75 hours until the gelation of the complete tablet (data not shown). In the case of the drug-loaded tablets, there is no steady state in membrane thickness, which is mainly related to the faster water uptake of these tablets (Figure 4.3).

Figure 4.8.C shows that the membrane thicknesses measured with self-diffusion coefficient imaging as defined in Figure 4.7.A are the same within the experimental error as those measured on the proton density images. However, the errors are smaller since the self-diffusion coefficient images provide sharper definition of the different regions than the proton density images. Those measurements are in agreement with results of X-ray tomography of plain CHAS tablets hydrated for 24 hours (membrane thickness of 750-850 μm).¹⁶

The relationship between water uptake, membrane formation, and drug release was investigated. The drug release from the tablets was measured by following the UV absorption at the wavelength corresponding to the maximal absorption peak of the drug molecules. Figure 4.9.A shows that the drug release kinetics are similar for both drugs studied. This could be ascribed to the combined effects of water uptake and hydrodynamic radius. The water uptake in ciprofloxacin-loaded tablets is faster than that in acetaminophen-loaded tablets. A faster release should be expected, but the molecular weight and the hydrodynamic

radius of ciprofloxacin (MW 331 g/mol, R_h 0.65 nm) are twice as much as those of acetaminophen (MW 151 g/mol, R_h 0.37 nm), reducing the release rate of ciprofloxacin. Higher drug solubility usually leads to faster drug release,⁴⁵⁻⁴⁷ but the solubility is not the only factor.^{10, 45} In diffusion-controlled systems, the size of the drug also has a large influence on the release kinetics.⁴⁵

Figure 4.9.B shows that the release is not related only to the water uptake since in this case a linear relationship between drug release and water uptake should be observed. Therefore, the release must also be affected by the diffusion of the drug. The hydration of the tablet is lower in the acetaminophen tablets to achieve the same level of release as with the ciprofloxacin tablets. This can be explained by the higher diffusion coefficient of acetaminophen in the starch gel or to the formation of different gel structures in the presence of different drugs. However, with the self-diffusion coefficient of water being the same in both types of tablets, the differences in drug release could mainly be ascribed to their difference in molecular sizes. The acetaminophen has a smaller hydrodynamic radius than ciprofloxacin and thus diffuses faster. This is in agreement with previous results on the diffusion of the drug through a similar membrane of CHAS where the diffusion coefficient increases when the molecular weight of the probe decreases for drugs having equivalent solubility.¹⁰

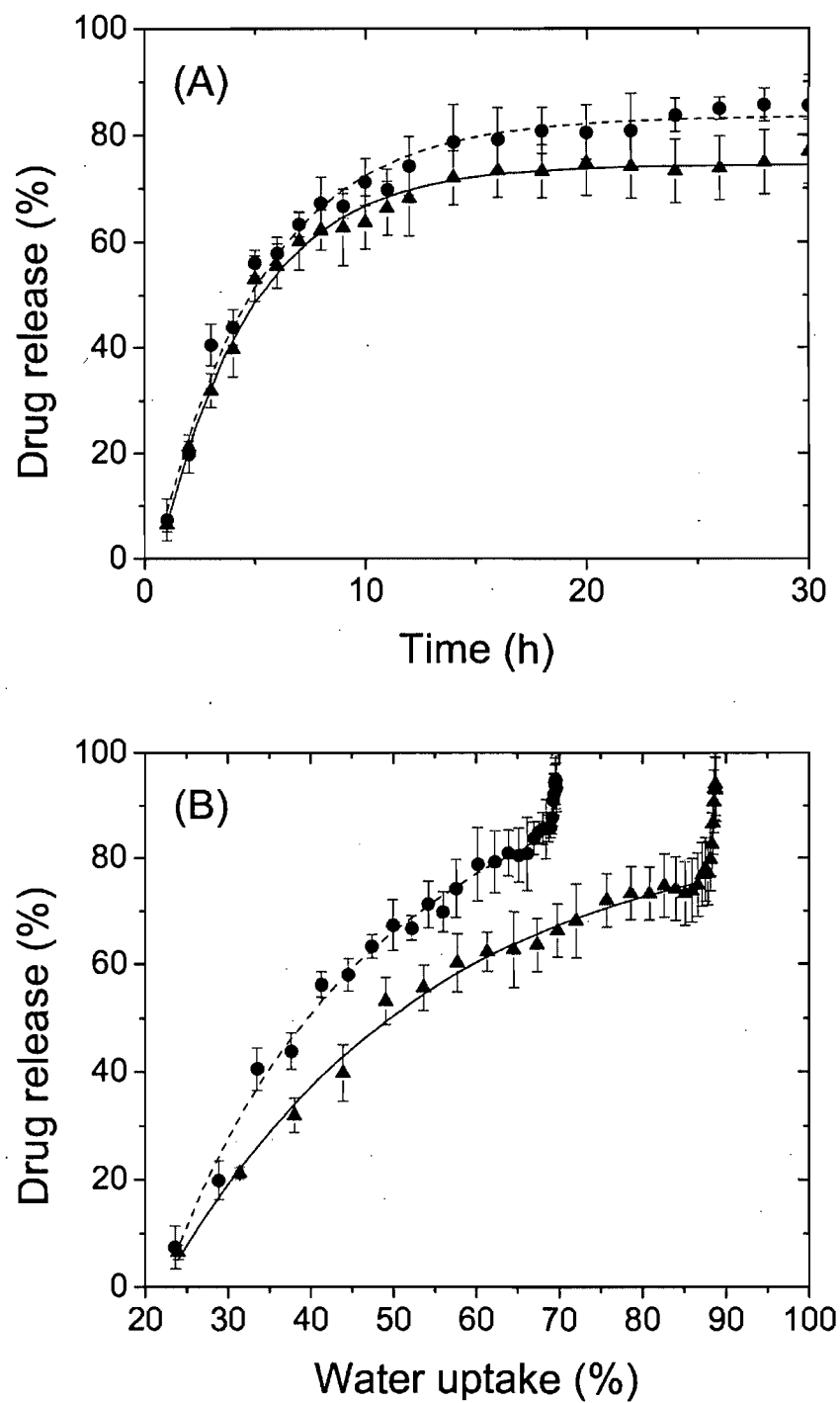


Figure 4.9. (A) Kinetics of drug release from CHAS tablets loaded with 10% (●) acetaminophen and (▲) ciprofloxacin. (B) Influence of water uptake on drug release. Lines are drawn only as a visual guide.

4.4. Conclusion

The effects of drug loading on the swelling, water uptake kinetics, and membrane formation of CHAS tablets can be studied by NMR imaging techniques. A 10 wt % drug-loading does not affect the extent of swelling of the tablets, within experimental errors, since the presence of drugs at this content does not interfere with the formation of double helices between starch molecules which limits the overall swelling of the CHAS tablets. However, the presence of drug molecules changes the chemical potential gradient, resulting in a faster water uptake for the drug-loaded tablets as clearly demonstrated by the higher diffusion coefficient obtained from the water concentration gradient in drug-loaded tablets.

Self-diffusion imaging provides an improved contrast in the different regions of the hydrated tablets and shows the formation of the membrane at the water/tablet interface which is important in maintaining the integrity of the tablets over time. The membrane is mainly composed of a region where the self-diffusion coefficient of water is stable. The same water self-diffusion coefficient is observed in the three different types of tablets studied. The faster water uptake in drug-loaded tablets is not caused by an increasing mobility of water in the tablet due to the presence of the drug but only to the higher chemical potential gradient present when drug-loaded tablets are immersed in water. The membrane thicknesses measured with NMR images are in keeping with the membrane thickness measured by other methods such as SEM and X-ray tomography. The information from water uptake and membrane thickness measurements is insufficient to explain the drug release kinetics, and physical characteristics (such as the molecular size) of the drugs are also important. The overall release process depends on both the membrane formation and the diffusion rate of the drugs.

4.5. References

1. Mateescu, M.A., Lenaerts, V. et Dumoulin, Y., *Use of Crosslinked Amylose as a Matrix for Slow-Release Oral Pharmaceutical Compositions*. U.S. Patent 5,456,921, **1992**.
2. Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., Mateescu, M.A., Cartilier, L. et Marchessault, R.H., *Crosslinked High Amylose Starch for Controlled Release of Drugs: Recent Advances*. *J. Controlled Release*, **1998**. 53, 225-234.
3. Lenaerts, V., Beck, R.H.F., Van Bogaert, E., Chouinard, F., Hopcke, R. et Desevaux, C., *Crosslinked High Amylose Starch Having Functional Groups as a Matrix for the Slow Release of Pharmaceutical Agents*. U.S. Patent 6,607,748, **2003**.
4. Mulhbacher, J., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M.A., *Cross-Linked High Amylose Starch Derivatives for Drug Release. II. Swelling Properties and Mechanistic Study*. *Int. J. Pharm.*, **2004**. 278, 231-238.
5. Hernandez-Lopez, C., Martinez-Farnos, L., Karhu, D., Perez-Campos, T., Rovira, S. et Encina, G., *Comparative Bioavailability Between Two Tramadol Once-Daily Oral Formulations*. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **2006**. 28, 373-378.
6. Desevaux, C., Dubreuil, P. et Lenaerts, V., *Characterization of Crosslinked High Amylose Starch Matrix Implants 1. In Vitro Release of Ciprofloxacin*. *J. Controlled Release*, **2002**. 82, 83-93.
7. Desevaux, C., Lenaerts, V., Girard, C. et Dubreuil, P., *Characterization of Crosslinked High Amylose Starch Matrix Implants 2. In vivo Release of Ciprofloxacin*. *J. Controlled Release*, **2002**. 82, 95-103.
8. Huneault, L.M., Lussier, B., Dubreuil, P., Chouinard, L. et Desevaux, C., *Prevention and Treatment of Experimental Osteomyelitis in Dogs with Ciprofloxacin-Loaded Crosslinked High Amylose Starch Implants*. *J. Orthop. Res.*, **2004**. 22, 1351-1357.
9. Ravenelle, F. et Rahmouni, M., *Contramid: High-Amylose Starch for Controlled Drug Delivery*, dans *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editeurs. **2006**, Oxford University Press, New York. p. 79-104.
10. Rahmouni, M., Lenaerts, V. et Leroux, J.C., *Drug Permeation Through a Swollen Cross-Linked Amylose Starch Membrane*. *STP Pharma Sci.*, **2003**. 13, 341-348.

11. Moussa, I.S. et Cartilier, L.H., *Characterization of Moving Fronts in Crosslinked Amylose Matrixes by Image Analysis*. J. Controlled Release, **1996**. 42, 47-55.
12. Le Bail, P., Morin, F.G. et Marchessault, R.H., *Characterization of a Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. Int. J. Biol. Macromol., **1999**. 26, 193-200.
13. Shiftan, D., Ravenelle, F., Mateescu, M.A. et Marchessault, R.H., *Change in the V/B Polymorph Ratio and T_1 Relaxation of Epichlorohydrin Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. Starch, **2000**. 52, 186-195.
14. Therien-Aubin, H., Janvier, F., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *Study of Hydration of Cross-Linked High Amylose Starch by Solid State ^{13}C NMR Spectroscopy*. Carbohydr. Res., **2007**. 342, 1525-1529.
15. Ravenelle, F., Marchessault, R.H., Legare, A. et Buschmann, M.D., *Mechanical Properties and Structure of Swollen Crosslinked High Amylose Starch Tablets*. Carbohydr. Polym., **2001**. 47, 259-266.
16. Chauve, G., Ravenelle, F. et Marchessault, R.H., *Comparative Imaging of a Slow-Release Starch Excipient Tablet : Evidence of Membrane Formation*. Carbohydr. Polym., **2007**. 70, 61-67.
17. Gao, P. et Meury, R.H., *Swelling of Hydroxypropyl Methylcellulose Matrix Tablets. 1. Characterization of Swelling Using a Novel Optical Imaging Method*. J. Pharm. Sci., **1996**. 85, 725-731.
18. Bussemer, T., Peppas, N.A. et Bodmeier, R., *Evaluation of the Swelling, Hydration and Rupturing Properties of the Swelling Layer of a Rupturable Pulsatile Drug Delivery System*. Eur. J. Pharm. Biopharm., **2003**. 56, 261-270.
19. Kazarian, S.G. et Chan, K.L.A., *"Chemical Photography" of Drug Release*. Macromolecules, **2003**. 36, 9866-9872.
20. Rajabi-Siahboomi, A.R., Bowtell, R.W., Mansfield, P., Henderson, A., Davies, M.C. et Melia, C.D., *Structure and Behavior 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. Controlled Release, **1994**. 31, 121-128.
21. Fyfe, C.A. et Blazek-Welsh, A.I., *Quantitative NMR Imaging Study of the Mechanism of Drug Release from Swelling Hydroxypropyl Me Cellulose Tablets*. J. Controlled Release, **2000**. 68, 313-333.
22. Kowalczyk, J., Tritt-Goc, J. et Pislewski, N., *The Swelling Properties of Hydroxypropyl Methyl Cellulose Loaded with Tetracycline Hydrochloride*:

- Magnetic Resonance Imaging Study*. Solid State Nucl. Magn. Reson., **2004**. 25, 35-41.
23. Baumgartner, S., Lahajnar, G., Sepe, A. et Kristl, J., *Quantitative Evaluation of Polymer Concentration Profile During Swelling of Hydrophilic Matrix Tablets Using ¹H NMR and MRI Methods*. Eur. J. Pharm. Biopharm., **2005**. 59, 299-306.
 24. Fyfe, C.A. et Blazek, A.I., *Investigation of Hydrogel Formation from Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) by NMR Spectroscopy and NMR Imaging Techniques*. Macromolecules, **1997**. 30, 6230-6237.
 25. Chowdhury, M.A., Hill, D.J.T. et Whittaker, A.K., *NMR Imaging of the Diffusion of Water at 37°C into Poly(2-hydroxyethyl methacrylate) Containing Aspirin or Vitamin B₁₂*. Biomacromolecules, **2004**. 5, 971-976.
 26. Chowdhury, M.A., Hill, D.J.T., Whittaker, A.K., Braden, M. et Patel, M.P., *NMR Imaging of the Diffusion of Water at 310 K into Semi-IPNs of PEM and Poly(HEMA-co-THFMA) with and without Chlorhexidine Diacetate*. Biomacromolecules, **2004**. 5, 1405-1411.
 27. Baille, W.E., Malveau, C., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 1. Swelling and Water Uptake*. Biomacromolecules, **2002**. 3, 214-218.
 28. Malveau, C., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 2. Effect of Tablet Size*. Biomacromolecules, **2002**. 3, 1249-1254.
 29. Thérien-Aubin, H., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 3. initial Diffusion and Temperature Effect*. Biomacromolecules, **2005**. 6, 3367-3372.
 30. Thérien-Aubin, H. et Zhu, X.X., *Water Diffusion in Drug Delivery Systems Made of High-Amylose Starch as Studied by NMR Imaging*, dans *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editeurs. **2006**, Oxford University Press, New York. p. 105-120.
 31. Rajabi-Siahboomi, A.R., Bowtell, R.W., Mansfield, P., Davies, M.C. et Melia, C.D., *Structure and Behavior in Hydrophilic Matrix Sustained Release Dosage Forms: 4. Studies of Water Mobility and Diffusion Coefficients in the Gel Layer of HPMC Tablets using NMR Imaging*. Pharm. Res., **1996**. 13, 376-380.
 32. Bowtell, R., Sharp, J.C., Peters, A., Mansfield, P., Rajabi-Siahboomi, A.R., Davies, M.C. et Melia, C.D., *NMR Microscopy of Hydrating Hydrophilic*

- Matrix Pharmaceutical Tablets*. Magn. Reson. Imaging, **1994**. 12, 361-364.
33. Kojima, M. et Nakagami, H., *Investigation of Water Mobility and Diffusivity in Hydrating Micronized Low-Substituted Hydroxypropyl Cellulose, Hydroxypropylmethyl Cellulose, and Hydroxypropyl Cellulose Matrix Tablets by Magnetic Resonance Imaging (MRI)*. Chem. Pharm. Bull., **2002**. 50, 1621-1624.
 34. Tritt-Goc, J., Kowalczyk, J. et Pislewski, N., *Magnetic Resonance Imaging Study of the Transport Phenomena of Solvent into the Gel Layer of Hypromellose Matrices Containing Tetracycline Hydrochloride*. J. Pharm. Pharmacol., **2003**. 55, 1487-1493.
 35. Stejskal, E.O. et Tanner, J.E., *Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient*. J. Chem. Phys., **1965**. 42, 288-292.
 36. Lerk, C.F., Bolhuis, G.K. et de Boer, A.H., *Effect of Microcrystalline Cellulose on Liquid Penetration in and Disintegration of Directly Compressed Tablets*. J. Pharm. Sci., **1979**. 68, 205-211.
 37. Alfrey, T.J., Gurnee, E.F. et Lloyd, W.G., *Diffusion in Glassy Polymers*. J. Polym. Sci. Polym. Symp., **1966**. 12, 249-261.
 38. Ritger, P.L. et Peppas, N.A., *A Simple Equation for Description of Solute Release. I. Fickian and Non-Fickian Release from Non-Swellable Devices in the Form of Slabs, Spheres, Cylinders or Disks*. J. Controlled Release, **1987**. 5, 23-36.
 39. Ritger, P.L. et Peppas, N.A., *A Simple Equation for Description of Solute Release. II. Fickian and Anomalous Release from Swellable Devices*. J. Controlled Release, **1987**. 5, 37-42.
 40. Crank, J. et Park, G.S., *Diffusion in Polymers*. **1968**, London, Academic Press.
 41. Lee, P.I., *Kinetics of Drug Release from Hydrogel Matrices*. J. Controlled Release, **1985**. 2, 277-288.
 42. Crank, J., *The Mathematics of Diffusion*. 2e ed. **1979**, Oxford, Clarendon Press.
 43. Russo, M.A.L., Strounina, E., Waret, M., Nicholson, T., Truss, R. et Halley, P.J., *A Study of Water Diffusion into a High-Amylose Starch Blend: The Effect of Moisture Content and Temperature*. Biomacromolecules, **2007**. 8, 296-301.

44. Gao, P. et Fagerness, P.E., *Diffusion in HPMC gels. I. Determination of Drug and Water Diffusivity by Pulsed-Field-Gradient Spin-Echo NMR*. Pharm. Res., **1995**. 12, 955-964.
45. Fu, X.C., Wang, G.P., Liang, W.Q. et Chow, M.S.S., *Prediction of Drug Release from HPMC Matrices: Effect of Physicochemical Properties of Drug and Polymer Concentration*. J. Controlled Release, **2004**. 95, 209-216.
46. Kiortsis, S., Kachrimanis, K., Broussali, T. et Malamataris, S., *Drug Release From Tableted Wet Granulations Comprising Cellulosic (HPMC or HPC) and Hydrophobic Component*. Eur. J. Pharm. Biopharm., **2005**. 59, 73-83.
47. Borgquist, P., Koerner, A., Piculell, L., Larsson, A. et Axelsson, A., *A Model for the Drug Release from a Polymer Matrix Tablet : Effects of Swelling and Dissolution*. J. Controlled Release, **2006**. 113, 216-225.
48. Rahmouni, M., Lenaerts, V., Massuelle, D., Doelker, E. et Leroux, J.-C., *Influence of Physical Parameters and Lubricants on the Compaction Properties of Granulated and Non-Granulated Cross-Linked High Amylose Starch*. Chem. Pharm. Bull., **2002**. 50, 1155-1162.

4.6. Annexe : Comparaison des valeurs de gonflement présentées aux chapitres 3 et 4

Les valeurs de gonflement présentées aux chapitres 3 et 4 dans le cas des comprimés sans principe actif à 37°C sont différentes dans les deux chapitres bien que les mêmes comprimés aient été étudiés et ce, dans les mêmes conditions. Il est à noter qu'au chapitre 3, le gonflement du comprimé est mesuré par rapport aux dimensions du comprimé avant l'immersion dans l'eau, alors qu'au chapitre 4, les mesures ont été effectuées par rapport aux dimensions des comprimés immédiatement suite à leur fabrication. Les dimensions des comprimés augmentent suite à leur fabrication en raison de la relaxation du polymère.⁴⁸ Lors de la compression des grains d'amidon pour former le comprimé, l'amidon se déforme de façon principalement plastique. Cependant, l'éjection du comprimé de la presse est suivie d'une récupération élastique de la forme originale du grain.⁴⁸ Dans le cas de tous les comprimés utilisés au chapitre 3, suffisamment de temps avait été laissé aux comprimés pour que, suite à la déformation en partie élastique, les grains retournent à l'état d'équilibre. Alors qu'au chapitre 4, certains comprimés utilisés sortaient tout juste de la presse et la récupération élastique n'avait peut-être pas complètement eu lieu. C'est pourquoi dans ce cas, les dimensions initiales de tous les comprimés ont été utilisées afin d'éviter l'obtention de résultats biaisés. De plus, comme les comprimés sans principe actif étaient plus vieux, il est possible qu'ils aient gonflés préalablement aux expériences d'imagerie au contact de l'humidité de l'air. C'est pourquoi les pourcentages de gonflement rapportés au chapitre 4 sont plus grands que ceux présentés au chapitre 3 et les vitesses de gonflement plus rapides au chapitre 4.

Chapitre 5 : Étude spectroscopique de l'hydratation d'amidon réticulé*

Starch is subjected to chemical treatments such as cross-linking or hydroxypropylation to meet the material requirements for food uses or controlled release in the pharmaceutical industries. When high amylose starch is used as excipient for sustained drug release can be prepared by different methods. In this paper, two types of cross-linking formulation have been analyzed. The structural differences and chain dynamics of the modified starches in the dry and hydrated states of cross-linked starch were compared using variable contact time cross polarization-magic angle spinning solid state ^{13}C NMR spectroscopy.

5.1. Main Text

Cross-linked high amylose starch (CHAS) used as an excipient in drug tablet preparation has shown a zero-order release of drug over a period of 2 to 24 hours¹⁻⁵ and is used in once-daily formulation of drugs tablets.⁵⁻⁷ Starch is a naturally occurring semi-crystalline polysaccharide mixture composed of amylose and amylopectin. Amylose is a linear polysaccharide, whereas amylopectin is highly branched. The three dimensional crystalline conformations of the single and double helix polymorphs⁸⁻¹³ have been identified from X-ray fiber diffraction,^{14, 15}

* Thérien-Aubin, H., Janvier, F., Baille, W. E., Zhu, X. X., et Marchessault, R. H., *Study of Hydration of Cross-linked High Amylose Starch by Solid State ^{13}C NMR Spectroscopy*, Carbohydrate Research, 2007, 342, 1525-1529

the double helices A and B and the single helix V. Native corn starch with high amylose content shows mainly a B-type crystalline conformation.¹⁶

Molecular order in starch can also be probed by ¹³C NMR. The repeating unit of starch is shown as an inset in Figure 1. The multiplicity of the C₁ resonance peak provides information on the crystallinity, the conformation of starch and the double helix symmetry.^{8-13, 17} For the B-type conformation, the C₁ resonance exhibits two peaks at 101 and 100 ppm and the A-type has three peaks at 102, 101 and 100 ppm.^{11, 13, 18} The broad peak of C₁ at 103 ppm is typical of a single helix organized in V-type crystalline phase or dispersed in the amorphous phase.¹⁹ NMR can detect short range order and allow the evaluation of helix content while X-ray crystallography can detect long range order and measure crystalline domain content.⁸

We have studied the effect of temperature, tablet size and processing method on the swelling and water uptake of CHAS tablets by NMR imaging.²⁰⁻²³ The preparation method of CHAS affects the penetration of water into the tablets²³ and thus their drug-release properties. This behavior is ascribed to the limited mobility of starch chains in highly cross-linked CHAS. Experimentally, it was found that a higher degree of cross-linking in the preparation of CHAS I leads to higher degree of swelling and faster water uptake by the tablets,²⁴ which is opposite to the expected effect of an increased number of cross-links. The highly cross-linked CHAS has a limited mobility which inhibits the formation of B-type (double helices) domains which limit swelling by a pseudo cross-linking effect.² The aim of this study is to investigate the dry and hydrated states of two CHAS samples made by two different preparation methods. ¹³C solid-state NMR spectroscopy with cross-polarization and magic angle spinning (CP/MAS) was used to study the correlation of the behavior of tablets with the molecular ordering of starch in such samples.

Figure 5.1 shows typical spectra of CHAS in both dry and hydrated states. There is no major spectral difference between CHAS I and CHAS II (prepared differently as described in the experimental section). Both dry starches contained mainly non-crystalline domains and V-type single helices. The broad peak between 70 and 80 ppm is related to carbons 2, 3 and 5 of the glucose unit in a poorly ordered system.^{8, 9, 25} The C₁ peak at 104 ppm is associated with single helices in both amorphous^{10, 25} and V-helix structures.^{25, 26} Upon hydration, both narrowing and splitting of the peaks are observed. This is attributed to a decrease in the size of the non-crystalline domains and to an increased order in crystalline domains.⁹ The typical spectral features of B-type helices are clearly visible in the spectra of hydrated starch, showing the two peaks of C₁ at 100 and 101 ppm^{9, 11, 27} and the peaks of C₂, C₃ and C₅ between 70 and 80 ppm. A decrease of the unordered C₄ peaks at 83 ppm^{12, 28} is also observed upon hydration, and the ordered C₄ shows a signal in the 70-80 ppm region.^{12, 27, 28}

Variable contact time ¹³C CP/MAS NMR experiments of the dry and hydrated samples were analyzed in terms of their relaxation parameters and of a proton spin diffusion constant (T_{df}) to account for spin diffusion ¹H-¹H homonuclear dipolar interactions using the following equation:²⁹

$$M(\tau_{CP}) = M_0 \exp\left(-\frac{\tau_{CP}}{T_{1\rho}^H}\right) \times \left\{ \begin{array}{l} 1 - \lambda \exp\left(-\frac{\tau_{CP}}{T_{df}}\right) - (1 - \lambda) \exp\left(-\frac{3\tau_{CP}}{2T_{df}}\right) \\ \exp\left(-\frac{\tau_{CP}^2}{2T_2^2}\right) \end{array} \right\} \quad 5.1$$

where $M(\tau_{CP})$ is the NMR signal at a contact time τ_{CP} , $T_{1\rho}^H$ the longitudinal relaxation time in the rotating frame, T_2 the transverse relaxation time, and $\lambda = 1/(n+1)$ with n being the number of hydrogen atoms on the carbon atom observed.

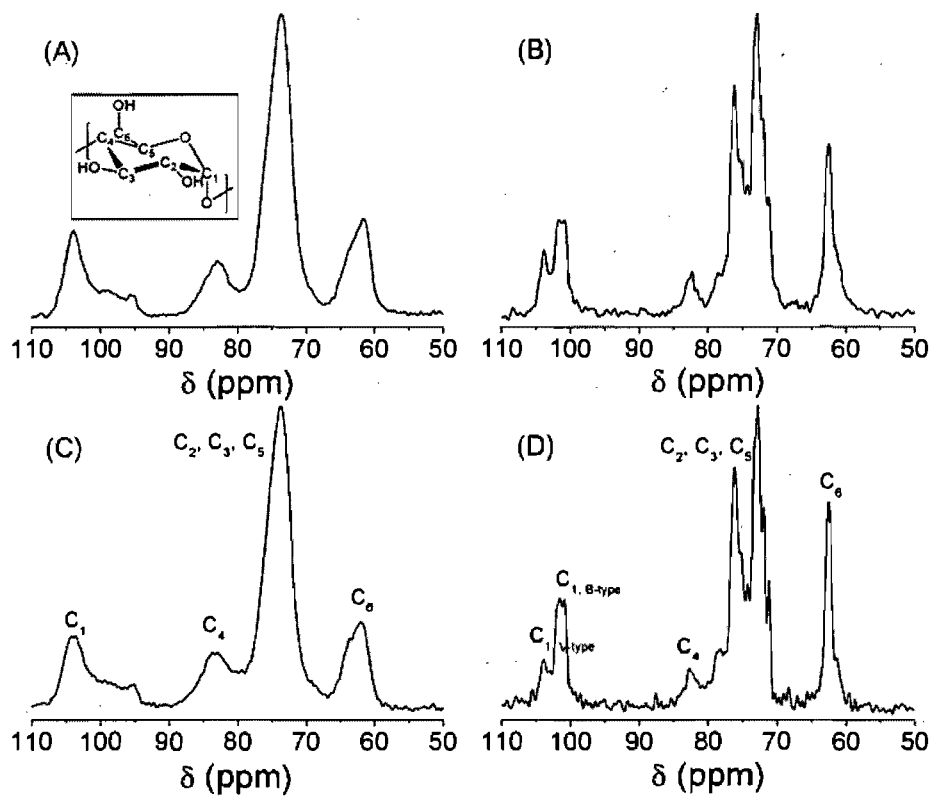


Figure 5.1. ^{13}C CP/MAS spectra at a contact time of 1.5 ms for (A) dry CHAS I, (B) hydrated CHAS I, (C) dry CHAS II, and (D) hydrated CHAS II. The inset represents the chemical structure of $\alpha(1-4)$ glucopyranose repeating unit of amylose with $^4\text{C}_1$ chair conformation.

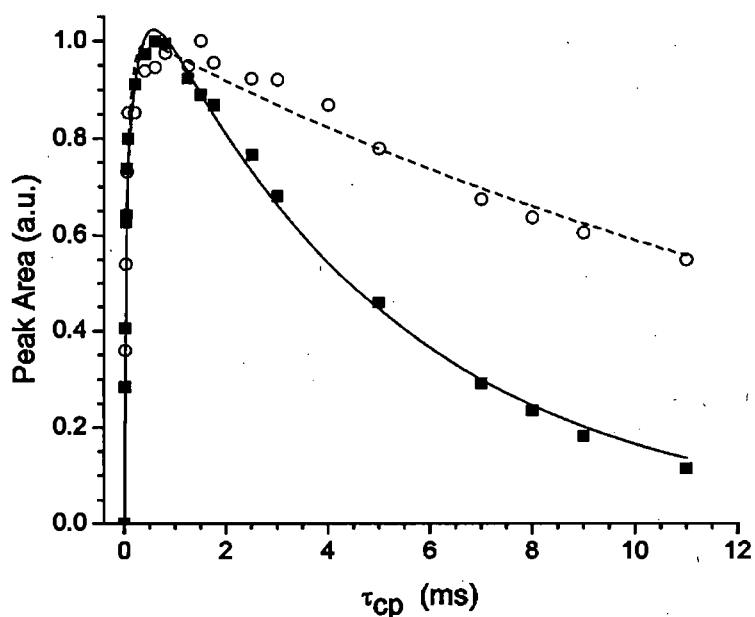


Figure 5.2. Analysis of the C_6 peak areas as a function of the contact time used in the CP/MAS NMR experiments. Dry CHAS II (●); hydrated CHAS II (○). Lines are fits to equation 1.

Figure 5.2 shows typical fits of equation 1 to experimental data for both the dry and hydrated CHAS. The $T_{1\rho}^H$ values obtained in the dry state (Table 5.1) are coherent with previously reported values.⁸ For both samples, we observe an increase in $T_{1\rho}^H$ upon hydration of the starch. It is clear that the longer $T_{1\rho}^H$ values have larger errors than the lower $T_{1\rho}^H$ values, which, in part, is caused by the scale of contact times used. Longer contact times may lead to somewhat improved precision on the $T_{1\rho}^H$ values, but the trend is clear under the experimental conditions used. For all the signals studied, the signal attenuation reached at least 20 %. A slight decrease of T_2 is also observed upon hydration. This change in chain dynamics is attributed to the hydration of the starch and the conversion of non-crystalline domains or V-type single helices to B-type helices.

Table 5.1. Relaxation parameters obtained from variable contact time ^{13}C CP/MAS NMR experiments with the dry and wet CHAS samples

	CHAS I			CHAS II		
	$T_{1\rho}$ (ms)	T_2 (μs)	T_{df} (ms)	$T_{1\rho}$ (ms)	T_2 (μs)	T_{df} (ms)
Dry state						
C_1	7.4 ± 0.8	28 ± 4	0.8 ± 0.3	6.7 ± 0.4	22 ± 2	0.5 ± 0.2
C_4	7.0 ± 0.8	31 ± 5	0.7 ± 0.3	6.0 ± 0.5	25 ± 2	0.6 ± 0.1
$C_{2,3,5}$	7.5 ± 0.6	20 ± 2	0.7 ± 0.2	6.7 ± 0.4	20 ± 1	0.5 ± 0.1
C_6	5.8 ± 0.4	19 ± 2	0.44 ± 0.05	5.4 ± 0.3	19 ± 1	0.3 ± 0.1
Hydrated state						
$C_{1, \text{V-type}}$	5.4 ± 0.8	22 ± 6	0.03 ± 0.02	5.4 ± 0.7	17 ± 3	0.4 ± 0.3
$C_{1, \text{B-type}}$	23 ± 8	13 ± 4	0.2 ± 0.1	26 ± 3	21 ± 2	0.3 ± 0.1
C_4	7 ± 1	16 ± 4	0.10 ± 0.07	7.9 ± 0.6	20 ± 4	0.15 ± 0.05
$C_{2,3,5}$	17 ± 3	15 ± 5	0.10 ± 0.08	17 ± 1	20 ± 1	0.3 ± 0.2
C_6	13 ± 1	16 ± 2	0.18 ± 0.05	15 ± 1	20 ± 4	0.3 ± 0.1

Only small differences in the relaxation parameters between the two CHAS are observed. In the dry state $T_{1\rho}^H$ is slightly higher for CHAS I than for CHAS II, but upon hydration no statistically significant difference is observed between the two CHAS. The amount of cross-linker used in the preparation of CHAS I is more than 20 times higher in molar ratio than that used for CHAS II. This could be responsible of the slightly higher rigidity of CHAS I in comparison to CHAS II as observed in the dry state with the $T_{1\rho}^H$ values.

Figure 5.3 shows the decomposition of the C_1 region of the NMR spectra. In the dry starch, four peaks are needed for the decomposition of the signal observed in this region, while for the hydrated samples five peaks are needed for the best fit. Peak A, observed in all the samples, is typical of both the V type helix^{25, 26} and the amorphous content.^{10, 28} Peaks B and B' are characteristic of the B type helices.^{26, 28} Peak C is related to the glucose units near $\alpha(1-6)$ linkages²⁶ in amorphous domains.¹⁰ Peak D is associated to constrained linkages in a poorly favored conformation.^{26, 28} Peak E is related to the interfacial region between single helices or amorphous domains and double helix regions.¹⁰ This intermediate material retained some local order but is considered as non-crystalline.⁹

The dry samples are mainly amorphous and present type V helix. Peak A represents more than 50 % of the total area of the C_1 band (Table 5.2). Type B double helix is present in the dry sample. This is probably related to the moisture content of 7 to 8 wt% in those samples. The broad peaks observed in the dry state prevent the observation of the two typical peaks related to type B helices. Ordering observed in the NMR spectrum is caused by short range ordering, while X-ray diffraction needs large ordered domains to probe the ordering. The dry CHAS samples show V-type ordering and some B-type ordering by NMR, but no crystalline features were observed by X-ray powder diffraction for CHAS I samples.¹⁹ The same results are obtained for CHAS II (data not shown).

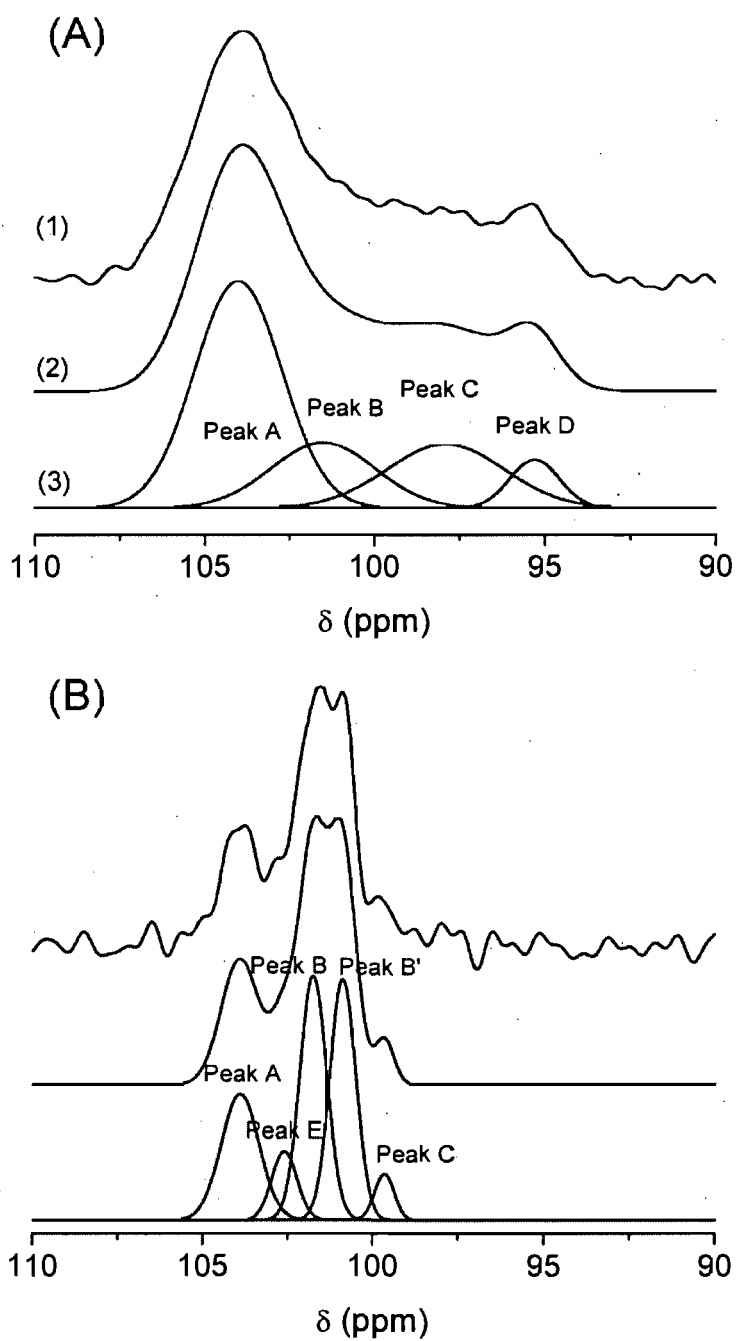


Figure 5.3. The CP/MAS ^{13}C NMR spectra acquired at a contact time of 1.25 ms (1), the simulated spectra (2) and the decomposed peaks (3) for (A) dry CHAS II and (B) hydrated CHAS II.

Table 5.2. Analysis of the spectral components of C₁ peak of amylose in the dry and wet CHAS samples.

Peaks	δ (ppm)	$W_{1/2}$ (ppm)	M_0 (%)	$T_{1\rho}$ (ms)
Dry CHAS I				
A	104.2 ± 0.1	2.4 ± 0.1	52 ± 2	6.3 ± 0.3
B	102.5 ± 0.6	4.4 ± 0.6	21 ± 1	6.0 ± 0.6
C	98.3 ± 0.3	4.3 ± 0.9	21 ± 1	5.9 ± 0.4
D	95.7 ± 0.1	1.6 ± 0.1	6.2 ± 0.6	6 ± 1
Dry CHAS II				
A	104.1 ± 0.1	3.0 ± 0.1	56 ± 2	6.8 ± 0.3
B	101.5 ± 0.2	3.6 ± 0.7	18 ± 1	6.9 ± 0.7
C	97.9 ± 0.3	4.0 ± 0.4	18 ± 1	6.4 ± 0.6
D	95.3 ± 0.1	2.5 ± 0.2	7.43 ± 0.5	7.1 ± 0.6
Hydrated CHAS I				
A	104.0 ± 0.1	0.9 ± 0.2	28 ± 3	7 ± 1
E	103.1 ± 0.2	1.1 ± 0.3	8 ± 1	15 ± 2
B	101.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	60 ± 1	40 ± 10
B'	100.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1		
C	99.9 ± 0.2	0.6 ± 0.1	4 ± 1	20 ± 10
Hydrated CHAS II				
A	103.9 ± 0.2	1.2 ± 0.2	18 ± 1	9 ± 1
E	102.9 ± 0.4	1.0 ± 0.2	16 ± 2	24 ± 10
B	101.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	62 ± 1	35 ± 7
B'	100.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1		
C	99.8 ± 0.2	0.46 ± 0.07	3 ± 1	11 ± 6

Upon hydration, the half-height width of the peak ($W_{1/2}$) decreases by more than a factor of 2, and the two peaks type B helix is thus observed. Upon hydration the portion of type B helices in the sample increases greatly, the area of the type B helix peaks corresponds to more than 60 % of the total C_1 band area. The narrowing of the peaks also allows the observation of the interfacial region between the double helix domains and the unordered or single helix regions.

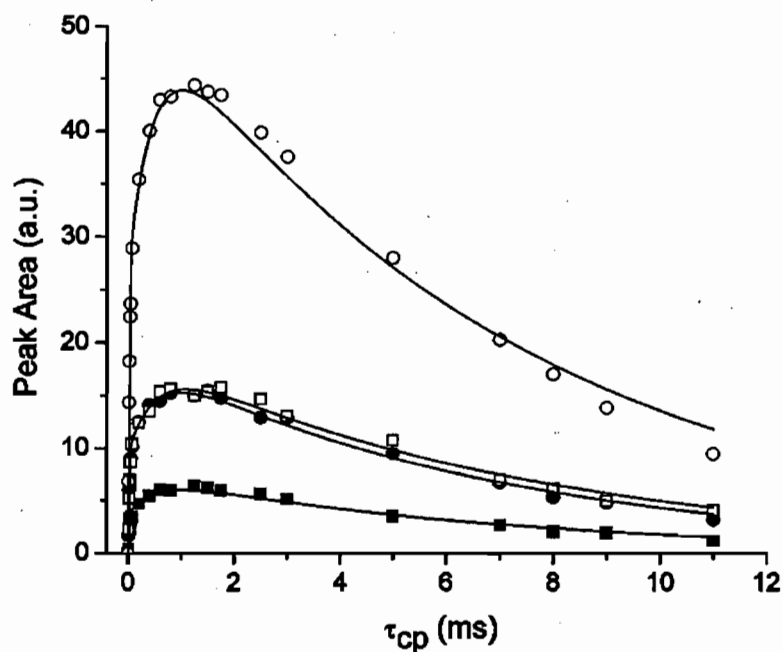


Figure 5.4. Analysis of the decomposed C_1 peak components for dry CHAS II as a function of contact time used in the CP/MAS NMR experiments. \circ Peak A; \square Peak B; \bullet Peak C; \blacksquare Peak D.

The decomposition of the C_1 peak shows that the variation of the relaxation times between CHAS I and CHAS II are small, but the hydration of the starch leads to a large variation of the chain dynamics in the sample. The results in Table

5.2 show that, upon hydration, the area of peak A (amorphous domain and V-type single helix) decreases and the area of peak B (B-type helix) increases. After hydration, the proportion of B-type helices in both CHAS is about the same (ca. 60 %). Thus, the variation in swelling between these two preparations^{22, 23} is not attributable to the increased formation of B-type helices in CHAS II. Hydrated CHAS I has a higher content of amorphous domain and V-type helices than CHAS II (28 % for CHAS I versus 16 % for CHAS II). This should be related to the existence of less interfacial material in CHAS I (8 % for CHAS I versus 16 % for CHAS II). CHAS I is gelatinized before cross-linking which leads to a segregation between amylose and amylopectin, whereas CHAS II is cross-linked in the granular state which leads to a more homogenous material.

The existence of less interfacial material in CHAS I than in CHAS II is also an indication that there is less interface between B-type domains and amorphous/V-type helical domains in CHAS I. This means that the same amount of B-type helices is more evenly distributed in CHAS II than in CHAS I. Consequently, CHAS II would be a more homogeneous sample than CHAS I. The lower swelling observed for CHAS II²³ tablet seems to be related to the homogeneity of the sample.

5.2. Experimental Section

5.2.1. Preparation of cross-linked high amylose starch.

CHAS I was prepared by gelatinizing high amylose starch (70% amylose) with 4% NaOH, and then cross-linking with 3.25% sodium trimetaphosphate (STMP) and spray-drying the sample.¹ For CHAS II, the starch was first cross-linked with 0.075% of phosphorus oxychloride in a 0.1% NaOH solution, then

functionalized with 6% of propylene oxide and finally gelatinized at ca. 160°C and spray-dried.⁵ CHAS II is commercially available as Contramid® from Labopharm Inc. (Laval, QC, Canada).

5.2.2. Solid state ¹³C NMR spectroscopy.

Variable contact time ¹³C CP/MAS spectra were recorded at room temperature at 150.90 MHz on a Bruker AV-600. The samples were spun at 8 kHz, and 1000 to 1800 scans were accumulated. The contact time varied from 0.01 to 11 ms. For the dry samples, the tablets (received from Labopharm) were crushed before the NMR experiments. For the hydrated samples, tablets were crushed and the powder was swollen in distilled water at 37°C for 48 h.

5.2.3. Spectral decomposition.

Spectral decomposition was performed on the C1 band since this peak is highly dependent on the starch conformation.^{9, 10, 25, 26} The dry and hydrated spectra were fitted to the sum of 4 and 5 gaussian peaks, respectively, by the use of Origin 7.5. The iterations of the fitting procedure were stopped at the minimal value of χ^2 . A first round of fitting was done while letting all the parameters (position of the peak (δ), half-height width ($W_{1/2}$) and intensity) free. Since there is no reason that the δ and $W_{1/2}$ values are different for the same sample at different contact times, a second round of fitting was performed with δ and $W_{1/2}$ values fixed to the mean value obtained previously for a given sample, while allowing only the intensity of the peak to vary. The area of the peaks obtained was then plotted as a function of the contact time (Figure 4).

5.3. References

1. Mateescu, M.A., Lenaerts, V. et Dumoulin, Y., *Use of Crosslinked Amylose as a Matrix for Slow-Release Oral Pharmaceutical Compositions*. U.S. Patent 5,456,921, **1992**.
2. Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., Mateescu, M.A., Cartilier, L. et Marchessault, R.H., *Crosslinked High Amylose Starch for Controlled Release of Drugs: Recent Advances*. *J. Controlled Release*, **1998**. 53, 225-234.
3. Mulhbacher, J., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M.A., *Cross-Linked High Amylose Starch Derivatives for Drug Release. II: Swelling Properties and Mechanistic Study*. *Int. J. Pharm.*, **2004**. 278, 231-238.
4. Ravenelle, F. et Rahmouni, M., *Contramid: High-Amylose Starch for Controlled Drug Delivery*, in *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editors. **2006**, Oxford University Press, New York. p. 79-104.
5. Lenaerts, V., Beck, R.H.F., Van Bogaert, E., Chouinard, F., Hopcke, R. et Desevaux, C., *Crosslinked High Amylose Starch Having Functional Groups as a Matrix for the Slow Release of Pharmaceutical Agents*. U.S. Patent 6,607,748, **2003**.
6. Mongin, G., Yakusevich, V., Koepe, A., Shostak, N., Pikhlak, E., Popdan, L., Simon, J., Navarro, C., Fortier, L., Robertson, S. et Bouchard, S., *Efficacy and Safety Assessment of a Novel Once-Daily Tablet Formulation of Tramadol: A Randomized, Controlled Study Versus Twice-Daily Tramadol in Patients with Osteoarthritis of the Knee*. *Clin. Drug Invest.*, **2004**. 24, 545-558.
7. Hernandez-Lopez, C., Martinez-Farnos, L., Karhu, D., Perez-Campos, T., Rovira, S. et Encina, G., *Comparative Bioavailability Between Two Tramadol Once-Daily Oral Formulations*. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, **2006**. 28, 373-378.
8. Gidley, M.J. et Bociek, S.M., *Molecular Organization in Starches: A ¹³C CP/MAS NMR Study*. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**. 107, 7040-7044.
9. Veregin, R.P., Fyfe, C.A., Marchessault, R.H. et Taylor, M.G., *Characterization of the Crystalline A and B Starch Polymorphs and Investigation of Starch Crystallization by High-Resolution ¹³C CP/MAS NMR*. *Macromolecules*, **1986**. 19, 1030-1034.
10. Paris, M., Bizot, H., Emery, J., Buzaré, J.Y. et Buléon, A., *Crystallinity and Structuring Role of Water in Native and Recrystallized Starches by ¹³C*

- CP/MAS NMR Spectroscopy 1: Spectral Decomposition*. Carbohydr. Polym., **1999**. 39, 327-339.
11. Shiftan, D., Ravenelle, F., Mateescu, M.A. et Marchessault, R.H., *Change in the V/B Polymorph Ratio and T₁ Relaxation of Epichlorohydrin Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. Starch, **2000**. 52, 186-195.
 12. Bogracheva, T.Y., Wang, Y.L. et Hedlery, C.L., *The Effect of Water Content on the Ordered/Disordered Structures in Starches*. Biopolymers, **2001**. 58, 247-259.
 13. Atichokudomchai, N., Varavinit, S. et Chinachoti, P., *A Study of Ordered Structure in Acid-Modified Tapioca Starch by ¹³C CP/MAS Solid State NMR*. Carbohydr. Polym., **2004**. 58, 383-389.
 14. Wu, H.-C.H. et Sarko, A., *Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. VIII. The Double-Helical Molecular Structure of Crystalline B-Amylose*. Carbohydr. Res., **1978**. 61, 7-25.
 15. Wu, H.-C.H. et Sarko, A., *Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. IX. The Double-Helical Molecular Structure of Crystalline A-Amylose*. Carbohydr. Res., **1978**. 61, 27-40.
 16. Hizukuri, S., *Relationship Between the Distribution of the Chain Length of Amylopectin and the Crystalline Structure of Starch Granules*. Carbohydr. Res., **1985**. 141, 295-306.
 17. Deval, F., Crini, G., Bertini, S., Morin-Crini, N., Badot, P.M., Verbrel, J. et Torri, G., *Characterization of Crosslinked Starch Materials with Spectroscopic Techniques*. J. Appl. Polym. Sci., **2004**. 93, 2650-2663.
 18. Morgan, K.R., Furneaux, R.H. et Larsen, N.G., *Solid-State NMR Studies on the Structures of Starch Granules*. Carbohydr. Res., **1995**. 276, 387-399.
 19. Le Bail, P., Morin, F.G. et Marchessault, R.H., *Characterization of a Crosslinked High Amylose Starch Excipient*. Int. J. Biol. Macromol., **1999**. 26, 193-200.
 20. Baille, W.E., Malveau, C., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 1. Swelling and Water Uptake*. Biomacromolecules, **2002**. 3, 214-218.
 21. Malveau, C., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *NMR Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 2. Effect of Tablet Size*. Biomacromolecules, **2002**. 3, 1249-1254.

22. Thérien-Aubin, H., Baille, W.E., Zhu, X.X. et Marchessault, R.H., *Imaging of High-Amylose Starch Tablets. 3. initial Diffusion and Temperature Effect*. *Biomacromolecules*, **2005**. 6, 3367-3372.
23. Thérien-Aubin, H. et Zhu, X.X., *Water Diffusion in Drug Delivery Systems Made of High-Amylose Starch as Studied by NMR Imaging*, in *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editors. **2006**, Oxford University Press, New York. p. 105-120.
24. Moussa, I.S. et Cartilier, L.H., *Characterization of Moving Fronts in Crosslinked Amylose Matrixes by Image Analysis*. *J. Controlled Release*, **1996**. 42, 47-55.
25. Gidley, M.J. et Bociek, S.M., *¹³C CP/MAS NMR Studies of Amylose Inclusion Complexes, Cyclodextrins, and the Amorphous Phase of Starch Granules: Relationships Between Glycosidic Linkage Conformation and Solid-State ¹³C Chemical Shifts*. *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**. 110, 3820-3829.
26. Paris, M., Bizot, H., Emery, J., Buzare, J.Y. et Buleon, A., *NMR Local Range Investigations in Amorphous Starchy Substrates I. Structural Heterogeneity Probed by ¹³C CP/MAS NMR*. *Int. J. Biol. Macromol.*, **2001**. 29, 127-136.
27. Rondeau-Mouro, C., Veronese, G. et Buleon, A., *High-Resolution Solid-State NMR of B-Type Amylose*. *Biomacromolecules*, **2006**. 7, 2455-2460.
28. Tang, H. et Hills, B.P., *Use of ¹³C MAS NMR to Study Domain Structure and Dynamics of Polysaccharides in the Native Starch Granules*. *Biomacromolecules*, **2003**. 4, 1269-1276.
29. Kolodziejwski, W. et Klinowski, J., *Kinetics of Cross-Polarization in Solid-State NMR: A guide for Chemists*. *Chem. Rev.*, **2002**. 102, 613-628.
30. Morgan, K.R., Furneaux, R.H. et Stanley, R.A., *Observation by Solid-State ¹³C CP/MAS NMR Spectroscopy of the Transformations of Wheat Starch Associated With the Making and Staling of Bread*. *Carbohydr. Res.*, **1992**. 235, 15-22.
31. Furo, I., Pocsik, I., Tompa, K., Teeaar, R. et Lippmaa, E., *CP/DD/MAS ¹³C Investigation of Anhydrous and Hydrated Cyclomalto-oligosaccharides. The role of Water of Hydration*. *Carbohydr. Res.*, **1987**. 166, 27-33.

5.4. Annexe : Précisions concernant la décomposition spectrale

L'analyse d'échantillons cristallins d'amidon à la fois par RMN du ^{13}C et par diffraction des rayons-X, a permis d'identifier la contribution spectrale de chacune des formes cristallines de l'amidon.^{8, 9} La comparaison des spectres RMN de l'amidon avec ceux de différentes molécules composées d'unités de glucoses, comme les cyclodextrines, a permis de déterminer l'origine d'autres contributions associées à des organisations de la phase amorphe moins favorisées chez l'amidon.
25, 30, 31

C'est sur la base de ces informations que la décomposition spectrale a été effectuée. Les échantillons d'amidon analysés étaient composés d'un mélange de phase amorphe, de domaines composés de simple hélices de type-V et, lorsque hydratés, de domaines composés de doubles hélices de type-B. La forme V est caractérisée par un pic entre 103 et 105 ppm selon le type de molécules incluses à l'intérieur de la cavité formée.^{8, 9, 18} Les doubles hélices de type-B sont caractérisées par deux pics de même intensité situés à environ 101 et 103 ppm.^{8, 9} La forme amorphe de l'amidon est, quant à elle, caractérisée principalement par trois pics, un pic large à 104 ppm qui se superpose au pic de la forme V,¹⁰ un pic associé à la présence des points de branchements de l'amylopectine situé entre 98 et 99 ppm,^{10, 26} et un pic peu intense associé à l'organisation la moins favorisée et la plus contrainte qui se retrouve à environ 95 ppm.^{26, 31} De plus, lorsque les pics des différentes formes sont suffisamment fins, un pic associé au matériel se situant à l'interface entre les domaines composés de doubles hélices de type-B et les domaines amorphes ou de simples hélices de type-V peut aussi être observé.²⁶

Afin de réaliser la décomposition des spectres RMN obtenus, l'ensemble de ces pics ont été utilisés. Cependant, dans le cas des échantillons secs, la largeur des pics observés est trop large pour identifier toutes les contributions. Donc, un seul pic a été utilisé pour lisser les deux pics liés à la forme B et celui des zones

interfaciales. Ainsi, quatre pics ont été utilisés pour décomposer les spectres des amidons secs. Celui à plus bas champ est associé aux domaines composés de simples hélices de type-V et de domaines amorphes, le second est associé aux doubles hélices de type-B et aux zones interfaciales, le troisième pic est associé aux résidus de glucose dans les domaines amorphes qui comptent un lien en position α 1-6, puis, celui à plus haut champ à la forme la plus contrainte retrouvée dans les domaines amorphes.

Dans le cas des amidons hydratés, cinq pics ont été utilisés afin de décomposer les spectres. Les pics étant plus fins, il était possible de séparer les contributions des deux pics des domaines composés d'hélices de type-B de celui des zones se trouvant à l'interface. Cependant, le pic associé à la forme amorphe la moins favorisée n'était pas observée. Deux raisons principales expliquent ce phénomène. Premièrement, la teneur en matériaux amorphe diminue lors de l'hydratation, entraînant une diminution de l'intensité de ce pic qui représente moins de 8% des échantillons secs. Deuxièmement, le rapport signal sur bruit des spectres d'amidon hydraté était plus faible que dans le cas des spectre d'amidons sec, car moins d'acquisitions ont été réalisées.

Le tableau 5.2 résume la composition des différents échantillons analysés. Vingt spectres RMN ont été obtenus, à différent temps de contact, pour chacun des échantillons analysés. Pour un échantillon donné, la position des pics se doit d'être la même dans ces vingt spectres. Une première ronde de lissage des spectres a été effectuée en laissant tous les paramètres libres, i.e. la position, la largeur et l'intensité des pics. La moyenne des vingt valeurs de position et de largeur des pics a été calculée. Ces valeurs sont celles retrouvées au tableau 5.2. L'incertitude (Δx) sur ces valeurs (x) a été calculée à partir de l'écart-type (s_x) pour une probabilité de Student de 95% (t) selon :

$$\Delta x = \frac{ts_x}{\sqrt{n}} \quad 5.2$$

Une seconde ronde de lissage a été effectuée en fixant la position et la largeur des pics aux valeurs moyennes déterminées précédemment, avec comme seule paramètre variable l'intensité des pics. Les aires des pics ainsi obtenues ont été utilisées afin de lisser l'équation 5.1 et déterminer M_0 et $T_{1\rho}$. Les incertitudes rapportées au tableau 5.2 sont, dans ce cas, les incertitudes statistiques sur chacun des paramètres de régression.

Chapitre 6 : Discussion générale

Une des préoccupations actuelles de l'industrie pharmaceutique est de produire des systèmes de relargage de médicaments plus efficaces. Pour ce faire, une meilleure compréhension de la dynamique de ces systèmes est essentielle, laquelle passe par l'étude des facteurs influençant la diffusion des molécules dans les systèmes polymères. Les chapitres 2, 3 et 4 abordaient l'étude de la diffusion dans des systèmes modèles et des systèmes pharmaceutiques par spectroscopie RMN, alors que le chapitre 5, lui, traitait des changements conformationnels de l'amidon lors de son hydratation.

6.1. Effets des bouts de chaînes acide carboxylique sur l'auto-diffusion de PEGs arborescents dans le PVA.

La structure et les groupements fonctionnels des molécules diffusantes influencent leur comportement diffusif de façon importante.¹⁻³ Les résultats présentés au Chapitre 2 montrent clairement que, tant dans les gels de PVA que dans ceux de PAAm, la diffusion des trois sondes arborescentes est pratiquement la même en dépit de masses molaires très différentes. L'analyse des résultats obtenus à l'aide du modèle de Petit *et al.*, afin de décrire plus en détails le comportement diffusif des molécules, permet de mettre en évidence l'influence du rayon hydrodynamique de la molécule diffusante et l'effet des bouts de chaînes.

Il a été précédemment démontré⁴ que les PEGs linéaires ne diffusent pas de manière identique à des analogues d'architecture dendritique ou hyperbranchée de masse molaire semblable. Cependant, la différence entre les sondes arborescentes ayant des groupements terminaux acide carboxylique et les PEGs non-chargés est

encore plus importante (Figure 2.8). Effectivement, le paramètre $k\beta^2$, relié à la fréquence de saut entre deux positions adjacentes, augmente d'un facteur d'environ 1,5 entre un PEG linéaire et un dendrimère de même masse molaire. Dans le cas des polymères arborescents ayant des groupements terminaux acide carboxylique, ce paramètre augmente d'un facteur variant entre 2,6 et 18 (Tableau 6.1) face aux PEGs linéaires de masse molaire équivalente.

La Figure 6.1 montre clairement que le paramètre $k\beta^2$ varie selon le rayon hydrodynamique de la molécule et non pas selon sa masse molaire. La Figure 6.1.C montre que pour une gamme de polymères de masse molaire donnée, plus la structure est compacte, plus le paramètre $k\beta^2$ augmente. Le même type de comportement est observé pour la variation de l'énergie d'activation. L'énergie d'activation est connue pour augmenter avec la masse molaire du diffusant⁵ de même qu'une structure compacte mène à l'obtention d'une énergie d'activation plus faible.⁴ Le $k\beta^2$ plus élevé et l'énergie d'activation plus faible associés à la diffusion des polymères arborescents chargés décrits dans ce travail, comparativement aux résultats trouvés pour des dendrimères non-chargés étudiés précédemment sont dus à la présence des groupements carboxylates qui poussent le dendrimère à adopter une structure plus compacte. La différence de densité de la sonde diffusante est encore plus grande que celle observée entre les dendrimères neutres et les PEGs linéaires de masse molaire équivalente (Tableau 6.1). Les résultats montrent qu'en absence de toute interaction spécifique entre le diffusant et la matrice, le rayon hydrodynamique de la molécule diffusante est le principal facteur influençant le processus diffusif.

La diminution du rayon hydrodynamique des dendrimères ayant des groupements terminaux acide carboxylique observée par rapport à celui des sondes étudiées précédemment est attribuable à la présence des groupements terminaux.

La taille des dendrimères varie de façon importante en fonction des groupements terminaux ou de la force ionique du milieu.⁶ Ce phénomène est imputable à l'électroconstriction des ions hydratés.⁷ L'électroconstriction cause une diminution de 10 à 20 % du volume partiel molaire de l'espèce chargée comparativement à la même espèce neutre.^{8,9} L'ion acétate et l'acide acétique ont des volumes de Van der Waals identiques, alors que l'ion acétate a un volume partiel molaire en solution dans l'eau et un rayon hydrodynamique plus faible que l'acide acétique.⁹ Le même phénomène est aussi observé pour l'ion diméthylammonium face à la diméthylamine.⁹ Ces variations sont attribuées à l'électroconstriction, les molécules d'eau présentes dans la sphère d'hydratation des espèces ioniques se trouvent sous l'influence du champ électrique de l'ion qui joue le rôle d'une force attractive et qui comprime ainsi les molécules de solvant ce qui réduit le volume occupé par la sphère d'hydratation.¹⁰ Ce sont les sels de sodium des dendrimères ayant des groupements terminaux acide carboxylique qui ont été utilisés au cours des expériences. La présence des ions carboxylates à la surface du dendrimère est responsable de la diminution du rayon hydrodynamique observée, et cette diminution est directement attribuable à l'électroconstriction causée par ces ions.

Tableau 6.1. Auto-diffusion de polymères de type poly(éthylène glycol) dans le poly(alcool vinylique).

Diffusant	M (g/mol)	T (°C)	$D_{0\text{ exp}}$ ($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	$D_{0\text{ cal.}}$ ($10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$)	R_h (nm)	ν	$k\beta^2$ ($10^{-5} \text{ g s}^{-1} \text{ m}^{-1}$)	E_a (kJ/mol)
1	2100	15,0	1,47	1,47	1,24	0,56	1,22	19 ± 5
		25,0	2,01	2,01	1,22	0,58	1,36	
		35,0	2,49	2,49	1,26	0,63	1,65	
		45,0	3,10	3,11	1,24	0,63	2,29	
2	6300	15,0	1,35	1,35	1,37	0,57	1,64	25 ± 4
		25,0	1,83	1,83	1,34	0,51	2,17	
		35,0	2,34	2,35	1,33	0,61	2,68	
		45,0	2,92	2,93	1,33	0,53	4,62	
3	7200	15,0	1,26	1,26	1,47	0,52	1,28	21 ± 2
		25,0	1,67	1,66	1,47	0,55	1,82	
		35,0	2,12	2,12	1,48	0,59	2,15	
		45,0	2,64	2,64	1,48	0,53	3,05	
PPI(TEO) ₈	2100	25,0	1,64 ^a	1,64	1,49	0,59	0,79	28 ± 2
PPI(TEO) ₃₂	8600	25,0	0,91 ^a	0,91	2,69	0,68	0,16	36 ± 3
PEG-2000	2000	25,0	1,10 ^b	1,09	2,25	0,53	0,53	38 ± 9
PEG-8000	8000	25,0	0,64	0,65	3,77	0,60	0,10	43 ± 2

1, 2 et 3 : polymères arborescents ayant des groupements acide carboxylique;

PPI(TEO)₈ et PPI(TEO)₃₂ : dendrimères;

PEG : polymère linéaire.

$D_{0\text{ exp}}$: Coefficient d'auto-diffusion mesuré du diffusant dans D₂O pur.

$D_{0\text{ cal.}}$: Coefficient d'auto-diffusion calculé du diffusant dans D₂O pur (eq 6.2).

R_h : Rayon hydrodynamique calculé par l'équation de Stokes-Einstein (eq 1.7).

^a Résultats de [4].

^b Résultats de [5].

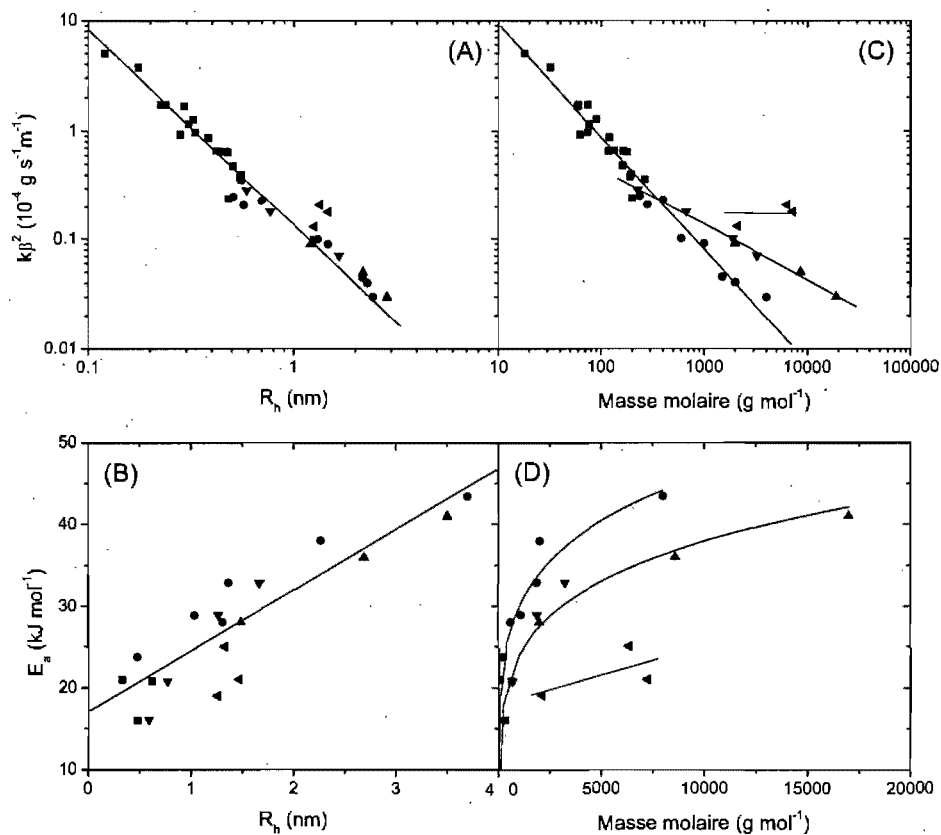


Figure 6.1. Influence du rayon hydrodynamique (A et B) et de la masse molaire (C et D) des molécules diffusantes sur (A et C) le paramètre $k\beta^2$ du modèle de Petit et *al.* et (B et D) l'énergie d'activation. (■) Petites molécules; (●) PEGs linéaires; (▲) PEGs dendrimères; (▼) PEGs hyperbranchés; (◄) Dendrimères aux groupements terminaux acide carboxylique.

6.2. Effets de la nature de la matrice polymère sur l'auto-diffusion.

Le comportement diffusif d'une sonde est, lui aussi, grandement influencé par la nature de la matrice. Dans le PVA, il a été démontré que ni la masse molaire, ni

le degré d'hydrolyse n'ont d'influence sur la diffusion de l'eau et du PEG.¹¹ Cependant, lorsque la nature de la matrice change, le type d'interactions diffusant/matrice peut aussi changer,¹¹⁻¹³ ce qui entraîne une variation du coefficient de diffusion. Lee et Chang¹² ont montré que le coefficient de diffusion du rouge de méthyle diminue pour une même concentration en polymère du polystyrène au poly(méthyl méthacrylate) au poly(vinyl acétate). Ce phénomène a été attribué à la différence d'interactions entre le rouge de méthyle et les différents polymères. Alors que le polystyrène ne peut créer de ponts hydrogène avec le diffusant, le groupement carbonyle du poly(vinyl acétate) est plus disponible que celui du poly(méthyl méthacrylate) pour interagir avec le diffusant par le biais de ponts hydrogène.¹²

La présence d'interactions spécifiques entre le diffusant et la matrice peut réduire le coefficient d'auto-diffusion du diffusant. Dans le cas des polymères arborescents ayant des bouts de chaînes acide carboxylique (1, 2 et 3), le coefficient de diffusion est plus faible dans le PAAm que dans le PVA, des interactions de type ionique pouvant être créées entre le diffusant et le PAAm. Qui plus est, le caractère diffusif des polymères arborescents change selon qu'il s'agit PVA ou de PAAm.

L'étude de la diffusion de l'éthylène glycol dans le PVA avait démontré la présence de deux fractions caractérisées par des coefficients de diffusion différents : une fraction libre diffusant rapidement et une fraction liée au PVA diffusant plus lentement.¹⁴ Dans ce cas, la fraction liée avait un déplacement chimique différent de la fraction libre, les protons de l'éthylène glycol lié étant davantage déblindés. La différence de déplacement chimique permettait une analyse simplifiée du phénomène. Dans le cas de 1, 2 et 3 une distribution de coefficient de diffusion est observée. Le mécanisme diffusif de la sonde est intimement lié à celui de la matrice de PAAm car la distribution du coefficient de diffusion de la sonde montre, dans tous les cas où la concentration en PAAm est

supérieure à 0,05 g/mL (Figure 6.2), un épaulement du côté des faibles coefficients de diffusion et ce, à une valeur égale au coefficient de diffusion moyen du PAAm (Figure 2.6). La distribution de coefficient de diffusion pourrait être associée, comme dans le cas de l'éthylène glycol dans le PVA, à l'existence de deux fractions, une liée au PAAm et une autre libre, ou encore à un mécanisme diffusif plus complexe. Contrairement à l'éthylène glycol dans le PVA, dans le cas de 1, 2 et 3 dans le PAAm, les coefficients de diffusion du diffusant et de la matrice sont semblables. La matrice polymère peut alors difficilement être considérée comme immobile par rapport au diffusant. Il s'en suit que le déplacement d'une molécule de la sonde diffusante peut être dû tant à la diffusion de la sonde qu'au mouvement plus global du réseau polymère entraînant la sonde.

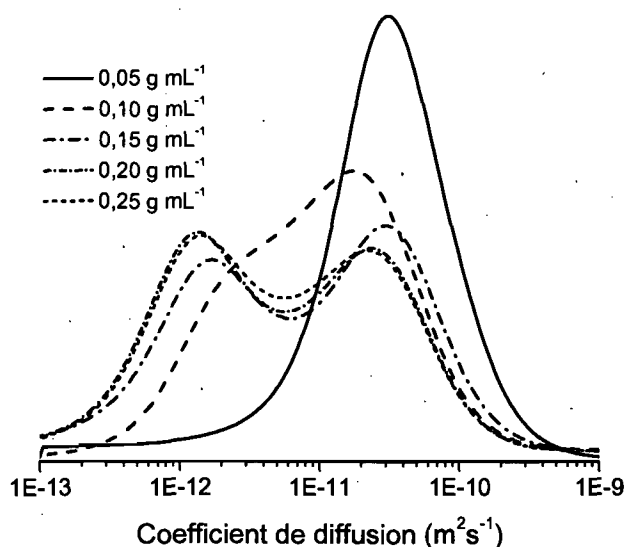


Figure 6.2. Distribution de coefficient de diffusion de la sonde 3 à 25°C dans des solutions de PAAm de différentes concentrations.

6.3. Gonflement des comprimés d'amidon réticulé.

Le gonflement des comprimés pharmaceutiques est un phénomène important pour le relargage des principes actifs.^{15, 16} L'imagerie RMN a été utilisée pour

suivre le gonflement des comprimés d'amidon réticulé lors de l'immersion dans l'eau et pour analyser l'influence de la température et de la présence de principes actifs sur ce dernier.

Au chapitre 3, l'influence de la température sur le gonflement a été analysée. La cinétique de gonflement et d'absorption d'eau par le comprimé a été étudiée à quatre températures différentes. Lorsque la température est inférieure à la température de gélatinisation, le pourcentage de gonflement du comprimé est limité et varie peu selon la température (de 11 à 14 % entre 25 et 45°C) bien qu'une augmentation de température augmente la vitesse de gonflement du comprimé. Cependant, lorsque la température est élevée jusqu'à la température de gélatinisation de l'amidon, soit environ 60°C, un gonflement plus important est observé, passant de 15 % dans la direction radiale à 37°C à 41 % à 60°C. La rétrogradation des chaînes d'amidon est largement responsable du gonflement limité des comprimés d'amidon à base température,¹⁷ puisque cette rétrogradation mène à la formation de doubles hélices qui agissent comme point de réticulation et qui limitent le gonflement du comprimé. Cependant, puisque la gélatinisation s'accompagne de la perte des domaines cristallins,¹⁸ à 60°C la rétrogradation de l'amidon n'est pas observée et le gonflement n'est donc plus limité par la présence des doubles hélices.

Le chapitre 4 montre que la présence d'un principe actif à 10% massique dans les comprimés de CHAS influence grandement la pénétration de l'eau. La présence de ciprofloxacine ou d'acétaminophène, deux principes actifs hydrosolubles, accélère la pénétration de l'eau dans les comprimés d'amidon. Cette accélération est attribuée à la présence d'un gradient de potentiel chimique plus important à l'interface comprimé eau lorsqu'un principe actif est présent dans le comprimé. Cependant, le gonflement du comprimé est le même dans tous les cas, à l'intérieur de l'erreur expérimentale. La présence d'un principe actif à une concentration de 10% massique semble donc insuffisante pour perturber tant

l'efficacité de la rétrogradation de l'amidon que les propriétés mécaniques du réseau formé, sinon, un gonflement plus important du comprimé aurait été observé en présence du principe actif.

6.4. Étude de la pénétration de l'eau dans les comprimés pharmaceutiques à base d'amidon réticulé.

Le chapitre 3 montre que la diffusion de l'eau à l'intérieur du comprimé se fait plus rapidement avec l'augmentation de la température. Une diffusion plus rapide de l'eau dans le comprimé rend l'eau disponible plus rapidement pour le gonflement de la matrice. C'est pourquoi la vitesse de gonflement augmente, elle aussi, avec l'augmentation de température entre 25 et 60°C. Cependant, la température n'affecte pas exactement de la même manière la diffusion de l'eau dans le comprimé et le gonflement. L'énergie d'activation du processus de diffusion est d'environ 30 kJ/mol (moyenne de l'énergie d'activation mesurée selon la direction radiale et axiale) alors que celle associée à la vitesse de gonflement du comprimé est plus élevée, soit environ 41 kJ/mol. Cette différence pourrait être associée au fait que, contrairement à la diffusion qui n'est reliée qu'au déplacement des molécules d'eau, le gonflement est le résultat combiné du déplacement des molécules d'eau et de la réorganisation des chaînes de polymères, ce qui nécessite plus d'énergie.

La quantité maximale d'eau absorbée par le comprimé est la même pour tous les comprimés analysés, la concentration finale en polymère dans le comprimé étant de 23 ± 4 % p/p. Cependant, dans le cas des comprimés contenant un principe actif, cet équilibre est atteint plus rapidement, le coefficient de diffusion de l'eau étant plus élevé. La pénétration de solvant plus rapide dans les comprimés contenant des principes actifs avait auparavant été attribuée au fait que la présence de principes actifs réduisait l'intégrité et la résistance du réseau polymère,¹⁹ les

comprimés contenant des principes actifs étant plus poreux. Cependant, le coefficient d'auto-diffusion de l'eau est sensiblement le même (Figure 4.7) dans les trois types de comprimés, ce qui porte à croire que l'environnement des molécules d'eau ne varie pas significativement d'un type de comprimé à l'autre. L'augmentation du coefficient de diffusion dans les comprimés contenant un principe actif est plutôt attribuable à une différence du gradient de potentiel chimique à l'interface comprimé/solvant lorsque des molécules solubles sont présentes dans le comprimé.

6.5. Évaluation du coefficient de diffusion dans les comprimés d'amidon.

Dans les chapitres 3 et 4, l'imagerie RMN est utilisée pour suivre l'évolution de la teneur en eau dans les comprimés d'amidon, afin, entre autre, de mesurer le coefficient de diffusion de l'eau dans le comprimé. Dans une expérience d'imagerie, comme celle utilisée et décrite à la figure 1.23.A, l'intensité du signal (M) en un point varie selon :²⁰

$$M = K\rho \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \right) e^{-\frac{TE}{T_2}} \quad 6.1$$

où K est une constante de proportionnalité, ρ la densité de spin, TR le temps de répétition, TE le temps d'écho, puis T_1 et T_2 les temps de relaxation spin-réseau et spin-spin.

Dans les conditions expérimentales utilisées, l'intensité du signal à l'intérieur du comprimé est proportionnelle à la densité de spin de ^1H , c'est donc dire que l'intensité du signal est proportionnelle à la concentration en molécules d'eau. Cependant, à l'extérieur du comprimé, le signal est atténué par un effet de T_1 , le temps de relaxation spin-réseau de l'eau à l'extérieur du comprimé étant plus long

(ca. 4 s à 37°C) qu'à l'intérieur du comprimé (ca. 220 ms à 37°C après une immersion de 100 h).

Puisque le signal RMN est proportionnel à la concentration en eau dans l'espace, l'évaluation du coefficient de diffusion est possible de deux façons différentes. D'une part, la concentration d'une espèce étant la masse de cette espèce par unité de volume, l'intégrale du signal de la concentration en eau dans l'espace à l'intérieur du comprimé est proportionnelle à la masse d'eau ayant pénétré dans le comprimé. Il est donc possible d'appliquer les équations développées pour la mesure de coefficient de diffusion par mesure de prise de poids.²¹ D'autre part, en appliquant la deuxième loi de Fick aux profils de concentration en eau obtenus, il est aussi possible de déterminer un coefficient de diffusion.

Ces deux approches reposent sur des hypothèses qui ne décrivent pas tout à fait adéquatement les systèmes étudiés. D'abord, ces deux méthodes ont été développées pour des géométries idéalisées. Afin d'obtenir une solution analytique à l'équation de la deuxième loi de Fick, il faut considérer la géométrie de l'échantillon comme étant infinie dans la direction qui n'est pas considérée. Lorsque l'on tient compte des effets de bords dans la solution de la deuxième loi de Fick, aucune solution analytique ne peut être trouvée. Afin de solutionner l'équation 1.3 pour une géométrie finie, il faut utiliser des approches itératives comme les éléments finis.²¹ Cependant, malgré le fait que le cylindre formé par le comprimé n'est pas infini, ni en longueur ni en rayon, les résultats présentés au chapitre 3 montrent clairement que décrire le comprimé comme un cylindre infini ou un plan infini est justifié puisque les valeurs obtenues selon ces deux directions sont les mêmes, à l'intérieur de l'erreur expérimentale. Afin de calculer un coefficient de diffusion moyen à l'aide de la méthode de prise de poids (eq. 3.4), la géométrie doit aussi être idéalisée comme un cylindre de longueur infinie. C'est

pour cette raison que seule la teneur en eau au centre du comprimé a été considérée. La pertinence de cette hypothèse ne peut être directement évaluée. Cependant, lorsque des effets de bords sont présents, le coefficient de diffusion apparent mesuré est surévalué face au coefficient de diffusion réel.²² Puisqu'une décroissance du coefficient de diffusion est observée, si des effets de bords sont présents dans notre échantillon, la décroissance réelle serait donc plus importante encore que celle observée. D'éventuels effets de bords ne peuvent donc pas être tenus responsables de la divergence entre le coefficient de diffusion instantané mesuré avec l'équation de Fick et le coefficient de diffusion moyen obtenu par la méthode de prise de poids.

Les résultats obtenus aux chapitres 3 et 4 montrent que le coefficient de diffusion diminue lorsque le temps d'immersion du comprimé augmente, cette diminution étant associée à la formation de la couche de gel à l'interface comprimé/eau. Le coefficient de diffusion semble donc varier tant en fonction du temps que de la position dans l'espace. La dépendance du coefficient de diffusion dans l'espace étant plus complexe à traiter,²³ le coefficient de diffusion sera considéré uniforme dans tout le comprimé mais variant dans le temps selon :

$$D = D_{\infty} + (D_0 - D_{\infty})e^{-k_D t} \quad 6.4$$

où D_{∞} est le coefficient de diffusion après un temps d'immersion infini, D_0 le coefficient de diffusion initial et k_D la constante représentant la décroissance du coefficient de diffusion. Il est possible, en première approximation, de substituer l'équation 6.4 dans les équations 3.1, 3.2 ou 4.5 afin de calculer un coefficient de diffusion dépendant du temps. Les résultats obtenus (Tableau 6.2) montrent clairement que le coefficient de diffusion décroît avec l'immersion du comprimé et que cette décroissance varie dans les différents systèmes étudiés. Plus la température augmente, plus la décroissance du coefficient de diffusion est rapide.

Cette diminution du coefficient de diffusion de plus de 90 % est observée dans les premières heures d'immersion. Cependant, à 60°C, la décroissance du coefficient de diffusion est moins importante. La décroissance du coefficient de diffusion de l'eau dans le comprimé peut être attribuée à la formation d'une couche de gel à l'interface comprimé/eau due à la rétrogradation de l'amidon qui limiterait la diffusion de l'eau dans le comprimé. À 60°C, il n'y a pas, ou à tout le moins peu, de rétrogradation de l'amidon puisque que cette température se situe au début de la plage de la température de gélatinisation de l'amidon. L'effet de la couche de gel est alors moins important.

Tableau 6.2. Coefficient de diffusion de l'eau dans les comprimés d'amidon modifié.

Amidon	T (°C)	$D_{initial}$ (10^{-11}) (m^2s^{-1})	D_{moyen} (10^{-11}) (m^2s^{-1})	D_0 (10^{-11}) (m^2s^{-1})	D_{infini} (10^{-11}) (m^2s^{-1})	k_D (h^{-1})
CHAS I	25	3,9 ± 0,5	2,0 ± 0,1	4,3 ± 0,2	1,6 ± 0,1	0,26 ± 0,01
	37	5,4 ± 0,3	2,7 ± 0,1	7,2 ± 0,8	1,6 ± 0,1	0,29 ± 0,02
CHAS II	25	3,9 ± 0,6	1,1 ± 0,1	4,6 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,25 ± 0,01
	37	6,7 ± 0,9	2,1 ± 0,1	4,9 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,34 ± 0,05
	45	8 ± 1	2,60 ± 0,05	5,4 ± 0,5	0,4 ± 0,1	0,45 ± 0,07
	60	16 ± 1	–	8 ± 1	5,6 ± 0,4	1,7 ± 0,2

Deux type de comprimés ont été étudiés : les comprimés de type CHAS I sont faits d'amidon réticulé avec 3,25 % de $(NaPO_3)_3$ après la gélatinisation, alors que les comprimés de type CHAS II sont faits d'amidon réticulé avec 0,075 % de $POCl_3$ avant la gélatinisation. Dans les comprimés de type CHAS I, la

décroissance du coefficient de diffusion est moins importante que dans les comprimés de type CHAS II. Le coefficient de diffusion moyen de l'eau est donc plus élevé dans les comprimés de type CHAS I. Ceci est attribué à la formation d'une couche de gel moins efficace pour limiter la diffusion de l'eau. (Chapitre 5, chapitre 6.7)

6.6. Relation entre la pénétration de l'eau dans les comprimés pharmaceutiques à base d'amidon et le relargage de principe actif.

L'intérêt principal des comprimés d'amidon réticulé est leur propriété de relargage prolongé des principes actifs. Au chapitre 4, des mesures de relargage d'acétaminophène et de ciprofloxacine ont été réalisées dans les mêmes conditions que les expériences d'imagerie RMN, permettant ainsi de relier directement le relargage avec la pénétration en eau telle que mesurée par RMN.

Les résultats montrent que le relargage des principes actifs est en partie contrôlé par l'hydratation du comprimé, mais principalement par leur diffusion dans le gel formé par l'hydratation de l'amidon (Figure 4.9). Pour un taux d'hydratation équivalent, le pourcentage d'acétaminophène relargué est plus important que le pourcentage de ciprofloxacine relargué. Le rayon hydrodynamique du ciprofloxacine étant plus grand que celui de l'acétaminophène, sa diffusion dans le gel d'amidon est donc réduite par rapport à celle de l'acétaminophène et une hydratation plus importante est conséquemment nécessaire pour obtenir un relargage équivalent à celui observé dans le cas de l'acétaminophène.

6.7. Influence du mode de préparation de l'amidon chimiquement modifié sur le comportement de l'excipient.

Le chapitre 5 porte sur les changements conformationnels observés dans l'amidon réticulé préparé selon deux méthodes distinctes. Les comprimés obtenus avec les deux types d'amidon réticulé montrent des comportements distincts. Le gonflement des comprimés de type CHAS I est plus important (Figure 6.3) et la diffusion de l'eau dans ces comprimés plus rapide (Figure 6.4) que pour les comprimés de type CHAS II à la même température.

La diffusion et le gonflement sont influencés par la rétrogradation de l'amidon en double hélice de type B. La première hypothèse émise (chapitre 2) pour expliquer la différence entre les deux types de préparation se fondait sur le fait que le taux de réticulation plus important de l'amidon de type CHAS I limitait la réorganisation des chaînes d'amidon en double hélice ce qui créait une couche de gel à l'interface comprimé/eau moins efficace pour limiter le gonflement et la pénétration de l'eau que dans les comprimés de type CHAS II.

Cependant, les résultats présentés au chapitre 5 montrent que la teneur en chaînes d'amidon organisées en double hélice dans l'amidon hydraté est la même dans les deux cas, soit environ 60 %. La différence principale entre les deux types d'amidon modifié se situe davantage au niveau de l'homogénéité de l'échantillon. L'échantillon hydraté d'amidon réticulé de CHAS I comporte moins d'interfaces entre les domaines composés de simples hélices et d'amidon amorphe et ceux composés de double hélices de type B que l'échantillon de CHAS II. Les domaines composés de doubles hélices sont donc mieux dispersés et distribués de façon plus homogène dans les comprimés de CHAS II que dans ceux de CHAS I. L'efficacité de la couche de gel formée à l'interface comprimé/eau est donc attribuable non pas au taux de réorganisation en doubles hélices, mais à l'homogénéité du gel formé.

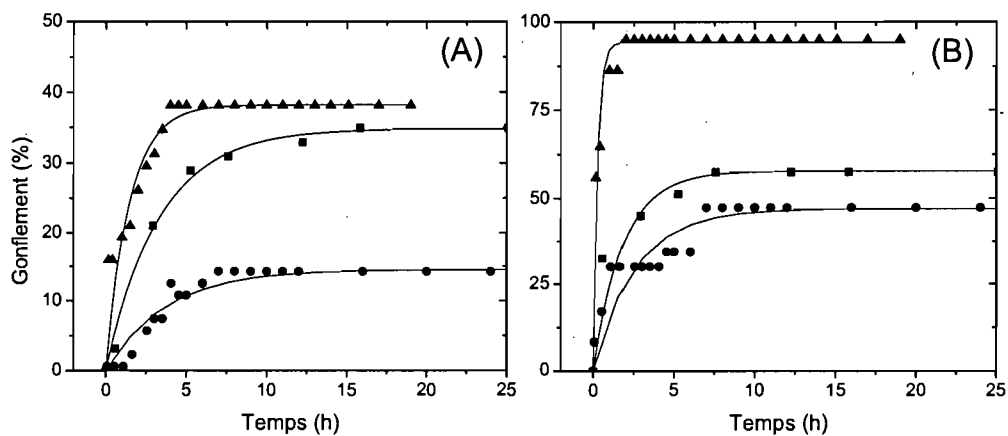


Figure 6.3. Gonflement des comprimés de CHAS I (■) à 37°C et de CHAS II à 37°C (●) et à 60°C (▲). Selon (A) le diamètre et (B) l'épaisseur du comprimé.²⁴

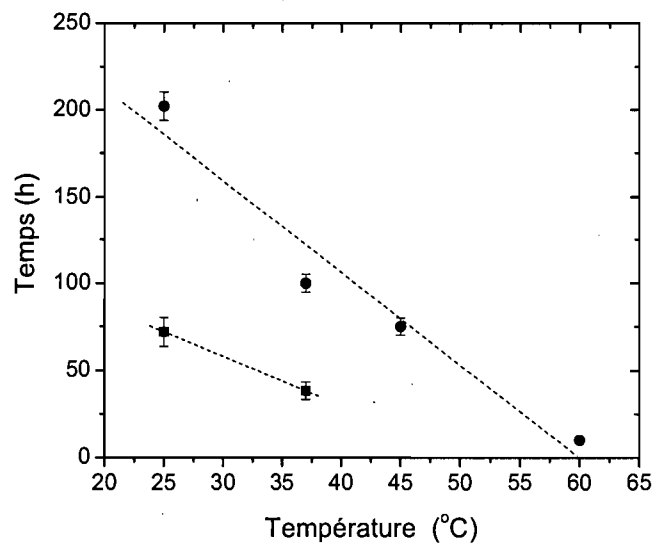


Figure 6.4. Temps nécessaire pour atteindre l'hydratation maximale du comprimé d'amidon. (■) CHAS I et (●) CHAS II.²⁴

6.8. Références

1. Petit, J.-M., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Solute Probe Diffusion in Aqueous Solutions of Poly(vinyl alcohol) as Studied by Pulsed-Gradient Spin-Echo NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **1996**. 29, 70-76.
2. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Self-Diffusion of End-Capped Oligo(ethylene glycol)s in Poly(vinyl alcohol) Aqueous Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **1999**. 32, 5383-5390.
3. Kwak, S. et Lafleur, M., *NMR Self-Diffusion of Molecular and Macromolecular Species in Dextran Solutions and Gels*. *Macromolecules*, **2003**. 36, 3189-3195.
4. Baille, W.E., Zhu, X.X. et Fomine, S., *Study of Self-Diffusion of Hyperbranched Polyglycidols in Poly(vinyl alcohol) Solutions and Gels by Pulsed-Field Gradient NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **2004**. 37, 8569-8576.
5. Masaro, L., Zhu, X.X. et Macdonald, P.M., *Self-Diffusion of Oligo- and Poly(ethylene glycol)s in Poly(vinyl alcohol) Aqueous Solutions As Studied by Pulsed-Gradient NMR Spectroscopy*. *Macromolecules*, **1998**. 31, 3880-3885.
6. Young, J.K., Baker, G.R., Newkome, G.R., Morris, K.F. et Johnson, C.S., Jr., *"Smart" Cascade Polymers. Modular Syntheses of Four-Directional Dendritic Macromolecules with Acidic, Neutral, or Basic Terminal Groups and the Effect of pH Changes on Their Hydrodynamic Radii*. *Macromolecules*, **1994**. 27, 3464-3471.
7. Zaikov, G.E., Iordanskii, A.L. et Markin, V.S., *Diffusion of Electrolytes in Polymers*. **1988**, Utrecht, VNU Science Press BV.
8. Strong, L.E., Bowe, M., White, J. et Abi-Selah, K., *Volumetric Properties of Some Methyl Substituted Benzoic Acids and their Sodium Salts in Water as a Function of Temperature*. *J. Solution Chem.*, **1994**. 23, 541-560.
9. Lepori, L. et Gianni, P., *Partial Molar Volumes of Ionic and Nonionic Organic Solutes in Water: A Simple Additivity Scheme Based on the Intrinsic Volume Approach*. *J. Solution Chem.*, **2000**. 29, 405-447.
10. Burgess, J., *Ions in Solution: Basic Principles of Chemical Interactions*. 2e ed. **1999**, Chichester (UK), Horwood Publishing.
11. Masaro, L., Ousalem, M., Baille, W.E., Lessard, D. et Zhu, X.X., *Self-Diffusion Studies of Water and Poly(ethylene glycol) in Solutions and Gels of Selected Hydrophilic Polymers*. *Macromolecules*, **1999**. 32, 4375-4382.

12. Lee, H. et Chang, T., *Hydrogen Bonding of Methyl Red to Poly(methyl methacrylate) and Poly(vinyl acetate) in Toluene Solution: a Diffusion, Binding, and Simulation Study*. *Macromolecules*, **2001**. 34, 937-941.
13. Thérien-Aubin, H., Baille, W.E. et Zhu, X.X., *Effects of Interactions Between Diffusant and Polymer Matrix as Studied by PFG NMR Spectroscopy*. *Can. J. Chem.*, **2007**. soumis.
14. Masaro, L. et Zhu, X.X., *Interaction of Ethylene Glycol with Poly(vinyl alcohol) in Aqueous Systems as Studied by NMR Spectroscopy*. *Langmuir*, **1999**. 15, 8356-8360.
15. Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R. et Peppas, N.A., *HPMC-Matrices for Controlled Drug Delivery: A New Model Combining Diffusion, Swelling, and Dissolution Mechanisms and Predicting the Release Kinetics*. *Pharm. Res.*, **1999**. 16, 1748-1756.
16. Bussemer, T., Peppas, N.A. et Bodmeier, R., *Evaluation of the Swelling, Hydration and Rupturing Properties of the Swelling Layer of a Rupturable Pulsatile Drug Delivery System*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2003**. 56, 261-270.
17. Ravenelle, F. et Rahmouni, M., *Contramid: High-Amylose Starch for Controlled Drug Delivery*, dans *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editeurs. **2006**, Oxford University Press, New York. p. 79-104.
18. Barsby, T.L., Donald, A.M. et Frazier, P.J., *Starch: Advances in Structure and Function*. **2001**, Cambridge, The Royal Society of Chemistry.
19. Kowalczyk, J., Tritt-Goc, J. et Pislewski, N., *The Swelling Properties of Hydroxypropyl Methyl Cellulose Loaded with Tetracycline Hydrochloride: Magnetic Resonance Imaging Study*. *Solid State Nucl. Magn. Reson.*, **2004**. 25, 35-41.
20. Levitt, M., *Spin Dynamics : Basics of Nuclear Magnetic Resonance*. **2001**, Chichester, John Wiley & Sons.
21. Crank, J. et Park, G.S., *Diffusion in Polymers*. **1968**, London, Academic Press.
22. Claesson, J., Hagentoft, C.E. et Wadsö, L., *Masked Edge Effects when Measuring Diffusion Coefficients with the Cup Method*. *Polym. Eng. Sci.*, **1994**. 34, 821-826.
23. Crank, J., *The Mathematics of Diffusion*. 2e ed. **1979**, Oxford, Clarendon Press.

24. Thérien-Aubin, H. et Zhu, X.X., *Water Diffusion in Drug Delivery Systems Made of High-Amylose Starch as Studied by NMR Imaging*, dans *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*, R.H. Marchessault, F. Ravenelle, and X.X. Zhu, Editeurs. 2006, Oxford University Press, New York. p. 105-120.

Chapitre 7 : Conclusion

Une connaissance et une caractérisation approfondies du mécanisme diffusif dans les matrices polymères sont essentielles afin d'optimiser les systèmes de relargage contrôlé existants et pour en développer de nouveaux plus efficaces. Pourtant, malgré l'importance de la question et les nombreuses études dans ce domaine, la diffusion et les facteurs qui l'influencent demeurent toujours mal compris. Les résultats présentés dans ce travail abordent cette problématique et démontrent l'intérêt des techniques de spectroscopie et d'imagerie RMN dans l'étude de facteurs influençant la diffusion.

7.1. Étude de la diffusion par spectroscopie et imagerie RMN et de la dynamique moléculaire par ^{13}C CP/MAS

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire à gradient de champ pulsé est une technique bien adaptée à la mesure de coefficients d'auto-diffusion de petites molécules et de macromolécules dans des systèmes polymères. Grâce à la nouvelle génération de bobines de gradients, des coefficients d'auto-diffusion beaucoup plus faibles qu'auparavant peuvent maintenant être déterminés comme, par exemple, ceux de dendrimères ayant des groupements acide carboxylique dans un réseau de poly(allyl amine) ou encore ceux de la matrice de poly(allyl amine) ou de poly(alcool vinylique).

Dans certains cas présentés dans ce travail, on constate cependant que la diffusion des espèces étudiées ne peut pas être représentée efficacement par un seul, ni même par la somme de plusieurs, coefficients d'auto-diffusion discrets. Ainsi en est-il de la diffusion des réseaux de PVA et de PAAm, qui, comme celle

des dendrimères dans le PAAm, est mieux décrite par une distribution de coefficients d'auto-diffusion. Afin de mesurer ces distributions de coefficients d'auto-diffusion à partir de la variation du signal RMN en fonction de l'intensité de l'impulsion de gradient de champ magnétique, des outils mathématiques plus appropriés impliquant des transformées de Laplace inverses ont dû être utilisés.

L'imagerie RMN est une technique non-destructive et non-invasive qui permet d'obtenir des images de l'intérieur d'un objet. Comme le signal obtenu par imagerie RMN est proportionnel à la concentration en eau à l'intérieur du comprimé si le temps d'écho est suffisamment court, il est donc possible de mesurer le coefficient de diffusion de l'eau dans le comprimé. De plus, l'imagerie RMN permet de produire des images où le contraste peut être ajusté selon différents paramètres. L'utilisation de l'imagerie en contraste par coefficient d'auto-diffusion a permis d'observer plus précisément les différentes zones du comprimé, incluant la membrane se formant à l'intérieur du comprimé

L'utilisation de temps de transfert de polarisation variable en spectroscopie RMN solide du ^{13}C a permis de d'obtenir de nouvelles informations sur les excipients d'amidon modifié. Ainsi, en plus d'observer qualitativement les changements conformationnels des chaînes d'amidon, l'hydratation de l'amidon menant à la formation de double hélice de type B, il a été possible d'évaluer quantitativement ce changement entre les divers polymorphes de l'amidon tout en obtenant des informations sur la dynamique de l'amidon à l'état sec et hydraté.

7.2. Auto-diffusion dans les hydrogels modèles

L'étude de l'auto-diffusion par spectroscopie RMN à gradient de champ pulsé a montré qu'en absence de toute interaction spécifique, le rayon hydrodynamique des molécules diffusantes est le facteur ayant une influence dominante sur le

coefficient de diffusion observé. Les résultats présentés pour différents types de diffusants dans le PVA montrent que, plus la structure adoptée en solution par le diffusant est compacte, plus le coefficient de diffusion et la fréquence de saut sont élevés et plus l'énergie d'activation, pour des diffusants de masses molaires comparables, est faible.

Ces études ont aussi permis de montrer qu'en présence d'interactions intermoléculaires fortes, le comportement diffusif se complexifie. En effet, l'étude de la diffusion de molécules polyfonctionnelles portant des groupements acides carboxyliques dans des matrices polymères ayant des groupements alcools ou amines a démontré, qu'en présence d'interactions ioniques, la diffusion des dendrimères est freinée et anormale. Dans ces cas, la diffusion est décrite par une distribution de coefficients d'auto-diffusion et non plus par un coefficient de diffusion discret. Ce type de comportement, rarement observé, est attribué à l'effet combiné de la dynamique des chaînes de PAAM et à la présence d'interactions fortes de type ionique entre la sonde et la matrice.

7.3. Spectroscopie ^{13}C à l'état solide et imagerie RMN de comprimés d'amidon de maïs modifié

L'amidon réticulé à haute teneur en amylose est un excipient novateur et polyvalent. Les comprimés à base de cet excipient peuvent être formés par compression directe et peuvent être utilisés avec une vaste gamme de principes actifs. L'imagerie RMN a été mise à profit afin de suivre le gonflement et la pénétration de l'eau dans ce type de comprimé et d'analyser l'impact de différents facteurs physico-chimiques sur le comportement du comprimé.

Grâce aux expériences d'imagerie, les coefficients de diffusion de l'eau dans les comprimés ont été mesurés. Nous avons démontré que les solutions de

l'équation de la deuxième loi de Fick pour des géométries idéalisées décrivent bien le phénomène et permettant de mesurer le coefficient de diffusion de l'eau dans les comprimés pharmaceutiques d'amidon modifié.

Nos expériences ont, entre autres, permis de mettre en évidence l'influence de la température sur la pénétration de l'eau dans le comprimé et sur son gonflement, et ce, principalement aux environs de la température de gélatinisation du comprimé. La cinétique de la formation de la membrane à l'interface comprimé/eau, réputée contrôler la diffusion dans ce type de comprimé, a été suivie par imagerie RMN.

Par ailleurs, l'analyse du relargage de principes actifs dans des conditions similaires à celles des expériences d'imagerie a démontré que le relargage de principes actifs des comprimés d'amidon réticulé est grandement influencé par la diffusion des molécules dans le gel d'amidon formé lors de l'hydratation du comprimé.

La spectroscopie RMN solide du ^{13}C , tout comme l'imagerie RMN, apportent des informations importantes sur le comportement de l'eau dans ces comprimés permettant ainsi de mieux prédire le relargage de principes actifs. En permettant l'analyse des changements conformationnels qui ont lieu lors de l'hydratation de l'amidon.

7.4. Travaux futurs

Les études présentées dans ce travail permettent de mieux comprendre la diffusion tant dans les hydrogels modèles que dans les comprimés pharmaceutiques. Cependant, nos résultats ayant montré une influence importante de la dynamique des chaînes de PAAm sur la diffusion des dendrimères, une étude plus exhaustive du transfert de masse par diffusion ou reptation du polymère

formant la matrice, semble essentielle à une compréhension plus globale de la dynamique du diffusant. De telles études pourraient fournir les bases expérimentales pour le développement d'un nouveau modèle mathématique décrivant mieux la diffusion et l'effet des interactions.

Afin de mieux faire le pont entre la diffusion dans les hydrogels modèles et les systèmes de relargage réels comme ceux à base d'amidon modifié, l'étude de l'auto-diffusion dans des hydrogels chimiquement réticulés pourrait être entreprise. Dans ce type de systèmes, le coefficient d'auto-diffusion devrait être relié tant au taux de gonflement de la matrice qu'au degré de réticulation du gel. De plus, la dynamique du réseau polymère devrait être très différente de celle observée dans les solutions étudiées ici.

Bien que cette étude ait permis de mieux comprendre le fonctionnement de comprimés d'amidon modifié, il est rare que cet excipient soit utilisé seul dans les comprimés pharmaceutiques. L'étude de comprimés plus près de ceux utilisés en situations réelles contenant des additifs tels le stéarate de magnésium, la gomme de xanthane ou du talc, doit être entreprise puisque ces additifs ont une influence sur la pénétration de l'eau dans le comprimé et en modulent donc le relargage des principes actifs.

De plus, cette étude a établi un lien entre la pénétration de l'eau dans le comprimé et le relargage des principes actifs, la présence de principe actif accélérant la pénétration de l'eau dans le comprimé et contrôlant conséquemment le relargage. En dépit de cette observation, il nous faut admettre que le rôle des principes actifs dans le relargage demeure imparfaitement compris. Afin de mieux caractériser le processus de relargage et de mieux interpréter le comportement des comprimés, il nous apparaîtrait important d'étudier le relargage avec des comprimés pharmaceutiques ayant différentes teneurs en principes actifs.

D'autre part, puisque l'imagerie RMN ne peut détecter que la partie mobile d'un échantillon, il est pratiquement impossible d'utiliser cette technique pour mesurer la diffusion d'un principe actif. En effet, dans le comprimé non-hydraté le principe actif sera immobile et donc invisible. Par contre, lors de l'hydratation du comprimé, le principe actif devient de plus en plus mobile et son signal varie. La microtomographie de rayons-X en mode sélectif à un élément chimique qui serait spécifique au principe actif est une technique qui pourrait être complémentaire à l'imagerie RMN. Cette technique pourrait être utilisée pour déterminer la distribution spatiale du principe actif dans un comprimé après une période d'immersion donnée. Cependant, l'étude du même comprimé à différents temps d'immersion comme en imagerie serait impossible. Ces études donneraient des images de la concentration de principes actifs dans le comprimé et pourraient, en conjonction avec les résultats d'imagerie RMN, permettre de mieux comprendre le comportement des comprimés d'amidon modifié.