

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

LE CARBOXYMÉTHYL AMIDON COMME EXCIPIENT POUR DES ENROBAGES PHARMACEUTIQUES

THÈSE

PRÉSENTÉE

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DU DOCTORAT EN CHIMIE

PAR

MARC-ANDRÉ LABELLE

JUILLET 2023

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.04-2020). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

L'accomplissement de mon doctorat est une chance inouïe que je dois à plusieurs. D'abord au professeur Mircea Alexandru Mateescu, mon directeur de thèse, et je voudrais le remercier pour sa patience, sa rigueur, ses idées, son expérience et ses anecdotes. Merci aussi de m'avoir accepté au sein de ce laboratoire extraordinaire qui étudie les biopolymères et les enzymes végétales, deux sujets, beaucoup de projets, chaleureux par leur approche verte et fascinants par leur complexité.

Une chance que je dois aussi à ma co-directrice, Dr Pompilia Ispas-Szabo, pour avoir cru en moi, m'avoir motivé et avoir su me transmettre sa passion.

Je dois remercier le professeur Huu Van Tra, ex-directeur du programme de doctorat en chimie, et le professeur Sylvain Canesi, directeur des programmes gradués, pour m'avoir donné la chance de poursuivre des études graduées après mon expérience en industrie.

Une chance que je dois à mes parents qui m'ont donné la passion des sciences très jeune : merci à ma mère Francine pour m'avoir montré la lune chaque soir, merci à mon père Serge pour m'avoir dessiné des plans cartésiens. Tous ces souvenirs et expériences ont contribué à développer ma passion des sciences et à rester fort. Merci de m'avoir permis de grandir dans ce beau petit coin de nature de la ville de Léry. Merci à mon frère Olivier et ma sœur Sophie, pour leur soutien, leur aide et encouragements. Merci à mon garçon Bastien qui est extraordinaire. Merci à mon amour Caitlin qui aussi incroyable que la vie peut l'être.

Merci aux professeurs du département, Mohammed, Ali, Alexandre, Alexandre, Steve, Borhane, Daniel, Sylvain et Laurent qui ont pris le temps de m'aider à m'améliorer. Merci aussi à toute l'équipe du Laboratoire : Armelle, Mariela, Salma, Meriem, Rym, Farzaneh et Paul pour leur enthousiasme et leur support, ainsi que tous ceux qui ont étudié ou travaillé au laboratoire ou collaboré de près ou de loin, ou qui ont eu la patience de m'aider dans tous mes projets : Élena, Georgiana, Mirna, Charlotte, Pascale, Nassim, Guy, Guy, Gwenaël et Luc.

Ces projets n'auraient été possibles sans l'implication financière de la Fondation Courtois (CERMO-FC) et des bourses du Centre de recherche en infectiologie porcine et avicole (CRIPA) de l'Université de Montréal.

L'entreprise Colorcon® a permis à l'équipe de faire des essais préliminaires de fabrication des films et d'enrobages sur quelques matériaux et doit être mentionnée pour son implication et sa générosité.

Des tests mécaniques ont pu être faits sur les films grâce à madame Nadine Paiement et monsieur Erick Gonzalez-Labrada (IntelGenX, Montréal) qui nous ont aimablement permis d'utiliser leur banc d'essais de traction. Il n'est pas facile de se procurer des grades particuliers d'amidon. Merci aux compagnies Roquette et frères, Ingredion et JRS Pharma pour nous avoir offerts de nombreux produits d'amidon pour la recherche.

Un grand merci, de ma part et de toute l'équipe.

## DÉDICACE

À Caitlin, notre amour et le destin.

À mes parents et mon garçon Bastien.

À la nature et à l'humain, sachant tout faire à partir de rien.

À chacun de nous, unique par ses connaissances.

À la vie, si belle, que nous trouvons dans l'art et la science.

Au savoir, qui veut 'prolonger la vie humaine',  
de grands défis, qui me motivent et m'entraînent.

## AVANT-PROPOS

**Sujet** - Ce travail traite de l'amidon comme excipient pharmaceutique, plus précisément du carboxyméthylamidon riche en amylose (en anglais : carboxymethyl high amylose starch, CMHAS) comme matériel filmogène pour l'enrobage des comprimés. Depuis plusieurs années, le CMHAS est étudié comme excipient formant des matrices monolithiques par compression et offrant une protection contre l'acidité gastrique pour la livraison d'agents bioactifs. Il pourrait aussi être utilisé comme matériau filmogène pour former des enrobages entériques pour comprimés.

**Structure du document** - Cette thèse contient une première section sur la littérature à propos de l'amidon et une deuxième section expérimentale sur la modification de l'amidon et la conception des comprimés, films et enrobages.

Une partie de la revue littéraire est rapportée sous forme d'article publié dans le journal scientifique *Starch – Stärke*, Éditions John Wiley & Sons, Ltd (chapitre 1).

Dans la section expérimentale, les résultats sont présentés sous la forme de deux manuscrits d'article de publication pour des journaux scientifiques, en cours de soumission.

**Motivations** - L'amidon est un biopolymère avec une structure particulièrement complexe et fascinante. Il est naturel et biodégradable, ce qui propose une vision verte de renouvellement. C'est aussi probablement un matériau important pour les générations futures qui devront faire face à une réduction de la production de produits pétroliers et des problèmes de gestions des déchets.

Le Laboratoire du professeur Mateescu travaille depuis plus de 20 ans sur un dérivé peu commun de l'amidon, le carboxyméthyl amidon riche en amylose (CMARA). En plus de sa provenance verte, le CMARA offre la nouveauté pour bien des applications, ce qui est très inspirant pour la recherche.

L'enrobage des comprimés est une pratique courante pour améliorer l'avalement et masquer le goût des excipients. Ces enrobages solubles des comprimés sont surtout faits de sucres, PVA ou cellulose modifiée.

Les matériaux utilisés pour retarder la libération et protéger de l'acidité gastrique sont surtout synthétiques. Les plus utilisés sont les dérivés de phtalates et les méthacrylates. Il serait utile d'avoir un

amidon commercial pour l'enrobage entérique des comprimés. Le seul amidon excipient pharmaceutique est Lycoat® et est utilisé pour une dissolution rapide.

Depuis plus de 20 ans, le carboxyméthyl amidon riche en amylose s'est démarqué comme matrice monolithique offrant une protection gastrique et aussi pouvant transporter des grandes charges de médicaments ou d'agents bioactifs. Il pourrait être un bon matériau d'enrobage pour les comprimés à libération ciblée à l'intestin grêle et au côlon.

**But** - Cette thèse vise à étudier les propriétés filmogènes des dérivés d'amidon utilisés comme matrices monolithiques gastro-protectrices pour les appliquer comme enrobages entériques.

**Difficultés** - Les amidons de grade pharmaceutique sont solubles et forment des enrobages solubles (*i.e.* le glycolate d'amidon sodique et Lycoat®). L'amidon riche en amylose (ARA) n'a pas les mêmes propriétés que les amidons réguliers (*i.e.* la température de gélatinisation). Moins solubles, les dérivés d'ARA permettent une bonne protection contre l'acidité gastrique. Cependant, cette faible solubilité rend la gélatinisation plus difficile et impacte les paramètres de synthèse. Le degré de modification est important car il influence (entre autres) la solubilité du matériau et donc son comportement comme excipient. L'amidon natif n'est pas filmogène; c'est pourquoi il est important de le modifier. Des plastifiants doivent être ajoutés pour améliorer les propriétés mécaniques des films. Toutefois, les plastifiants ont différentes propriétés qui peuvent influencer les films.

Le procédé d'enrobage dépend de plusieurs variables qui ont dû être ajustées. L'enrobage de comprimé n'est pas facile sans enrobeuse et est peu représentatif. Il a été possible de tester quelques CMARA chez l'entreprise Colorcon®. Ils ont appliqué leur expertise pour analyser les propriétés filmogènes de nos poudres d'amidon, et des enrobages ont été testés.

## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	ii
DÉDICACE .....	iv
AVANT-PROPOS.....	v
LISTE DES FIGURES.....	xi
LISTE DES TABLEAUX .....	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	xv
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS .....	xvii
RÉSUMÉ .....	xviii
ABSTRACT .....	xx
INTRODUCTION .....	1
PARTIE I – REVUE DE LA LITTÉRATURE .....	5
CHAPITRE 1 - ARTICLE DE REVUE. L’AMIDON MODIFIÉ : APPLICATIONS PHARMACEUTIQUES ET BIOMÉDICALES .....	6
1.1 Physical modifications.....	11
1.2 Chemical modifications.....	15
1.2.1 Cross-linking.....	15
1.2.2 Substitution.....	16
1.2.2.1 Starch ionic derivatives.....	16
1.2.2.2 Nonionic starch derivatives .....	21
1.2.3 Complexation.....	22
1.3 Enzymatic modifications .....	23
1.4 Combined modifications to design ‘smart’ starches.....	24
1.4.1 Theranostics.....	28
1.4.2 Stimuli-responsive systems.....	28
1.5 Conclusions and perspectives .....	29
CHAPITRE 2 - LES FILMS À BASE D’AMIDON MODIFIÉ.....	31
2.1 Structure, propriétés et caractéristiques de l’amidon.....	31
2.1.1 Gélatinisation.....	34
2.1.2 Rétrogradation.....	35
2.1.3 Caractérisation des granules d’amidon .....	36



2.1.3.1	Diffraction des rayons X (DRX).....	36
2.1.3.2	La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	37
2.1.3.3	Autres techniques.....	37
2.1.4	L'amidon riche en amylose (ARA).....	41
2.2	Les modifications de l'amidon.....	41
2.2.1	Les traitements physiques.....	42
2.2.2	Les modifications chimiques.....	43
2.2.2.1	Le carboxyméthyl amidon.....	45
2.2.3	Impact des modifications sur la structure de l'amidon.....	46
2.3	Développements et caractéristiques des films d'amidon natif.....	47
2.3.1	Caractérisation des films.....	49
2.3.2	Procédés de fabrication.....	49
2.3.3	Développements concernant les films d'amidon.....	50
2.3.4	Les publications concernant les films d'amidon non-fonctionnalisés.....	51
2.4	Les films d'amidon modifié.....	51
2.4.1	Les amidons modifiés filmogènes commerciaux.....	53
2.5	Applications.....	55
CHAPITRE 3 - L'AMIDON POUR L'ENROBAGE DES COMPRIMÉS.....		56
3.1	Histoire des enrobages entériques.....	56
3.2	Développements des enrobages à base d'amidon.....	58
3.2.1	Les procédés d'enrobage industriels.....	58
3.2.2	L'état de l'art.....	60
3.2.3	Technologies pour générer des matériaux d'amidons filmogènes et de revêtement.....	64
3.3	Caractéristiques des comprimés enrobés.....	66
3.3.1	Caractérisation physico-chimique des enrobages.....	66
3.3.2	Simulation du tractus gastro-intestinal (TGI).....	66
CHAPITRE 4 - LE PROJET DE RECHERCHE.....		69
4.1	Le carboxyméthyl amidon riche en amylose (CMARA) comme matériau filmogène.....	69
4.1.1	Hypothèses de travail pour le projet de doctorat :.....	71
4.1.2	Objectif de recherche.....	71
4.1.3	Approches méthodologiques.....	71
4.1.3.1	Modification de l'amidon.....	71
4.1.3.2	Obtention et caractérisation des films d'amidon.....	73
4.1.3.3	Enrobage des comprimés au Laboratoire à l'UQAM.....	74
4.2	La détermination du degré de substitution du CMARA par FTIR.....	74
4.2.1	Hypothèses de travail.....	75
4.2.2	Objectifs de recherche.....	75
4.2.3	Approche expérimentale.....	75
Partie II - section expérimentale.....		76

CHAPITRE 5 - DÉRIVÉS ANIONIQUES ET AMPHOLYTIQUES D'AMIDON RICHE EN AMYLOSE COMME EXCIPIENTS POUR DES APPLICATIONS PHARMACEUTIQUES ET BIOMÉDICALES : CORRÉLATION STRUCTURE-PROPRIÉTÉS.....	77
5.1 Introduction .....	79
5.2 Materials and Methods.....	81
5.2.1 Reagents .....	81
5.2.2 Starch modifications .....	82
5.2.3 Characterization of powders.....	83
5.2.4 Tablet preparation and testing .....	85
5.2.5 Film casting and testing .....	85
5.2.6 The cytotoxicity of various starch derivatives .....	86
5.3 Results.....	86
5.3.1 Characterization of powders.....	87
5.3.2 Characterization of tablets .....	90
5.3.3 Characterization of the films .....	93
5.4 Discussion.....	98
5.5 Conclusions .....	100
CHAPITRE 6 - LE CARBOXYMÉTHYL AMIDON COMME ENROBAGE ENTÉRIQUE .....	103
6.1 Introduction .....	107
6.2 Materials and methods.....	110
6.2.1 Materials.....	110
6.2.2 Starch modification.....	111
6.2.3 Cast films based on starch derivatives.....	112
6.2.4 Structural and thermal analysis .....	112
6.2.5 Film conditioning .....	113
6.2.6 Mechanical testing.....	113
6.2.7 Formulations for tablet coatings and process parameters.....	114
6.2.8 Testing of gastro-resistance of the coated tablets .....	115
6.2.9 Scanning electron microscopy (SEM).....	115
6.3 Results and discussion.....	115
6.3.1 Starch organization in cast films .....	116
6.3.2 Water presence in CMHAS cast films.....	118
6.3.3 Rheological studies .....	119
6.3.4 Coating formulations and process .....	120
6.3.5 Efficiency of plasticizers .....	125
6.4 Conclusions .....	127
CHAPITRE 7 - DISCUSSION GÉNÉRALE .....	130
7.1 Modification de l'amidon.....	130
7.1.1 Paramètres et rendements de carboxyméthylation.....	130
7.1.2 Comparaison des méthodes pour l'ajout du réactif SMCA pour la carboxyméthylation.....	130
7.1.3 Impact des modifications sur la structure de l'ARA.....	131

7.2 Les films d'amidon .....	132
7.2.1 Les films à 100 % de dérivés d'amidon .....	132
7.2.2 Les films d'amidon avec plastifiant.....	133
7.2.3 Enrobage des comprimés .....	134
7.2.3.1 Application de l'enrobage d'amidon (sans plastifiant) sur des comprimés monolithiques faits à l'UQAM.....	134
7.2.3.2 Conception d'un noyau à désintégration rapide contenant un traceur pour suivre l'efficacité des enrobages plus facilement et rapidement .....	135
7.2.4 Essais avec de l'équipement industriel .....	136
7.3 Évaluation du DS par FTIR .....	137
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	138
ANNEXE A MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DU CHAPITRE 5 .....	148
ANNEXE B MANUSCRIT D'ARTICLE SUR LE DEGRÉ DE SUBSTITUTION .....	157
APPENDICE 1 CONTRIBUTION COMME COAUTEUR POUR UN ARTICLE DE RECHERCHE VALORISANT LE CARBOXYMETHYLAMIDON.....	178
BIBLIOGRAPHIE.....	180

## LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Schematic representation of the structural changes in starch .....	12
Figure 1.2	Schematic representation and X-ray follow-up of the CMS offering protection in acidic media due to formation of dimers. ....	18
Figure 1.3	Relationship between starch modifications and its pharmaceutical and biomedical applications.....	24
Figure 2.1	Micrographie de différents amidons.....	32
Figure 2.2	Structures de l'amylose et de l'amylopectine avec l'organisation des hélices, et profils de cristallinité par DRX. ....	33
Figure 2.3	Aspects de la gélatinisation. ....	34
Figure 2.4	Sections hydrophiles et hydrophobes de la double-hélice et l'hélice simple. ....	35
Figure 2.5	Rétrogradation de l'amylopectine comparée à l'amylose. ....	36
Figure 2.6	Les différents facteurs affectant les courbes TGA de l'amidon.....	39
Figure 2.7	Coloration de l'iode en fonction de la teneur en amylose. ....	40
Figure 2.8	Viscosité des différents amidons pendant et après chauffage. ....	40
Figure 2.9	Structure de quelques amidons modifiés.....	44
Figure 2.10	Carboxyméthylation de l'amidon par l'éthérisation de Williamson (a) et titration inverse avec du HCl (b).....	45
Figure 2.11	Structure de l'amidon influencée par la gélatinisation, les modifications chimiques et le type de séchage.....	46
Figure 3.1	Matériaux pour l'enrobage des comprimés et les techniques de suivi <i>in vivo</i> . ....	57
Figure 3.2	Types d'enrobeuses à comprimés.....	59
Figure 3.3	Des appareils de dissolution.....	67
Figure 4.1	Résumé graphique du projet de maîtrise (A) 2016-2018 (Labelle, 2018) et continuation au projet de doctorat (B).....	70
Figure 4.2	Schéma organisationnel de l'étude sur les poudres, films et comprimés.....	72
Figure 5.1	Diffractograms of the powders, tablets and films based on high-amylose starch (HAS) and derivatives and CM corn starch (CMCS). ....	88

Figure 5.2	The TGA thermograms of the powder samples .....	90
Figure 5.3	The weight of the tablets during water uptake.....	91
Figure 5.4	Film aspects and water uptake.....	94
Figure 5.5	Schematic representation of the relationship between the structural organisation of starch after modifications and the X-ray diffraction pattern.....	96
Figure 5.6	DTG of the powders (orange) and of the films (blue) .....	97
Figure 5.7	Cytotoxicity analysis .....	98
Figure 6.1	Blue value test .....	116
Figure 6.2	FTIR spectra (A) and deconvolution for the range 1100-900 cm <sup>-1</sup> of cast films .....	117
Figure 6.3	Aspect of coated tablets.....	121
Figure 6.4	Micrographs of the core and various coatings for runs 1 and 4, cross-section .....	122
Figure 6.5	Disintegration times in simulated gastric fluid (SGF, pH 1.2) of the uncoated and coated tablets	123
Figure 6.6	Uncoated tablets (Cores) after immersion for 15min in SGF .....	124
Figure 7.1	Libération d'acétaminophène des comprimés monolithiques enrobés au laboratoire à l'UQAM. ....	134
<b>Annexe A</b>		
Figure S 1	Synthesis of starch derivatives using physical and chemical modifications.....	149
Figure S 2	FTIR spectra of carboxymethylstarch. ....	150
Figure S 3	Tablets before and after hydration. ....	154
<b>Annexe B</b>		
Figure B.1	Carboxymethylation and the subsequent steps of washing, protonation and titration of uncross-linked CM-starch. ....	162
Figure B.2	Synthesis of modified starches.....	164
Figure B.3	FTIR of carboxymethylstarch. ....	166
Figure B.4	Relation between the FTIR ratios and the DS obtained by back-titration .....	170
Figure B.5	Standard curves using different reference bands. ....	171

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Les propriétés de quelques amidons. ....	32
Tableau 2.2	Analyse thermogravimétrique de quelques amidons natifs et modifiés.....	38
Tableau 2.3	Réglementation des amidons modifiés comme additifs alimentaires.....	41
Tableau 2.4	Diverses classifications des modifications des amidons .....	42
Tableau 2.5	Perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) des films de différents matériaux.....	48
Tableau 2.6	Brevets concernant les films d'amidon.....	50
Tableau 2.7	Publications sur des films d'amidon non-fonctionnalisés. ....	52
Tableau 2.8	Principales modifications de l'amidon pour le rendre filmogène.....	53
Tableau 2.9	Quelques amidons filmogènes commerciaux.....	54
Tableau 3.1	Enrobages des formulations par l'amidon en association avec d'autres matériaux .....	61
Tableau 3.2	Enrobages pharmaceutiques ayant l'amidon comme seul polymère.....	62
Tableau 3.3	Brevets sur l'utilisation de l'amidon pour enrober des formulations.....	63
Tableau 3.4	Exemples d'amidons modifiés disponibles commercialement.....	65
Tableau 4.1	Paramètres de modification de l'amidon.....	73
Tableau 5.1	Synthesis in aqueous phase of starch derivatives.....	83
Tableau 5.2	Characterization of the starch excipients using various methods. ....	87
Tableau 5.3	Testing and observations of the tablets.....	92
Tableau 5.4	Film related properties.....	95
Tableau 7.1	Résumé de la protonation et de la détermination du DS de plusieurs CMARA fabriqués à l'UQAM	131
Tableau 7.2	Formulation d'un noyau monolithique à désintégration rapide .....	136

### Annexe A

Table S 1	Literature and experimental values for ATR-FTIR short-range structural parameters of reference starch samples .....	150
-----------	---	-----

Table S 2	FTIR and DRX parameters for powders (P), tablets (T) and films (F).....	151
Table S 3	TGA and DTG values of the powder samples. ....	152
Table S 4	Spectrophotometric measurements of the starch-iodine complex formation for the different derivatives and native starches. ....	153
Table S 5	Analysis of the films using TGA method. ....	154
Table S 6	Comparison of the correlation of the parameters for all the powder starch derivatives...	155
Table S 7	Correlation of the parameters measured for powders (P), tablets (T) and films (F). ....	156

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

AAC	Contenu apparent en amylose (test d'iode), en anglais : <i>Apparent amylose content</i>
AGU	Unité de glucose anhydre, de l'anglais : <i>anhydro glucose unit</i> , représentant le monomère de glucose dans les polymères de glucose, correspond à une masse moléculaire de 162 g/mol et est utilisé pour calculer le DS
ARA	Amidon riche en amylose
AMCA	Acide monochloroacétique
AOC	Quantité de cristallinité (FTIR), en anglais : <i>amount of crystallinity</i>
AE	Aminoéthyl
BV	Absorbance à 640nm pour le test d'iode, en anglais : <i>Blue value</i>
CEA	Chloréthylamine
CI	Index de cristallinité (FTIR), en anglais : <i>crystallinity index</i>
CL	Réticulé, en anglais : <i>cross-linked</i>
CLD	Degré de réticulation, en anglais : <i>cross-linking degree</i>
CAP	En anglais : <i>cellulose acetate phthalate</i>
CMAM	Carboxyméthylamidon de maïs
CMARA	Carboxyméthylamidon riche en amylose
CMC	Carboxyméthylcellulose
CMCS	CMAM en anglais : <i>carboxymethyl corn starch</i>
CMHAS	Carboxyméthyl amidon riche en amylose, en anglais : <i>carboxymethyl high amylose starch</i>
CMPS	Carboxyméthylamidon de pomme de terre, en anglais : <i>carboxymethyl potato starch</i>
CMS	Carboxyméthyl amidon, de l'anglais : <i>carboxymethyl starch</i>
CWS	Soluble en eau froide, de l'anglais : <i>cold-water soluble</i>
DR	Taux de désintégration des comprimés, en anglais : <i>disintegration rate</i>
DRX	Diffraction des rayons X
DS	Degré de substitution par AGU
DT	Temps de désintégration des comprimés, en anglais : <i>disintegration time</i>
DTG	Thermogravimétrie différentielle
ELF	Enrobeuse à lit fluidisé, de l'anglais : <i>fluidized bed coater</i>
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
GTMAC	Chlorure de glycidyl triméthylammonium
HAS	trad. ARA, de l'anglais : <i>high amylose starch</i>
HES	Hydroxyéthyl amidon, de l'anglais : <i>hydroxyethyl starch</i>
IBD	Maladies inflammatoires de l'intestin, de l'anglais : <i>inflammatory bowel diseases</i>
MEB	Microscopie électronique à balayage
OSA	Octényl succinate d'amidon
PEC	Complexe poly-électrolytique
PEG	Poly éthylène glycol
PVA	Alcool polyvinylique ou poly(alcool vinylique), de l'anglais : <i>polyvinyl alcohol</i>
PVE	Perméabilité à la vapeur d'eau
RAT	Résistance à la traction (MPa ou N/m <sup>2</sup> )
RC	Cristallinité relative, en anglais : <i>relative crystallinity</i>
SGF	Fluide gastrique simulé, de l'anglais : <i>simulated gastric fluid</i>
SIF	Fluide intestinal simulé, de l'anglais : <i>simulated intestinal fluid</i>
SMCA	Monochloroacétate de sodium



SSG	Glycolate d'amidon sodique, de l'anglais : <i>sodium starch glycolate</i>
STMP	Sodium trimétaphosphate
TGA	Analyse thermogravimétrique
TGI	Tractus gastrique et intestinal
TMA	Triméthylammonium
USP	Pharmacopée des États-Unis, en anglais : <i>United States Pharmacopeia</i>
XRD	Diffraction des rayons X, en anglais : <i>X-ray diffraction</i>

## LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

$^{\circ}(2\theta)$	Unité de mesure d'angle en DRX
AU	Unité d'absorbance (spectrométrie)
cps	Centipoise, mesure de viscosité
g/min	Débit de pulvérisation de la solution d'enrobage
$\text{g}\cdot\mu\text{m}/(\text{m}^2\cdot\text{jour}\cdot\text{kPa})$	Perméabilité à la vapeur d'eau, en gramme d'eau en fonction des dimensions du film, du temps et de la pression atmosphérique

## RÉSUMÉ

Titre : Le carboxyméthyl amidon comme excipient pour des enrobages pharmaceutiques

Cette thèse présente une section de revue de la littérature incluant un article de synthèse dans le journal *Starch - Stärke* (Labelle *et al.*, 2020) et une section expérimentale contenant un article de recherche publié dans *Pharmaceutics* (Labelle *et al.*, 2023) ainsi qu'un manuscrit d'article soumis dans *Journal of Pharmaceutical Sciences* (manuscrit XPHS-D-23-00390, en correction). Les travaux ont été faits sur l'amidon riche en amylose (ARA). Le but de ce travail était d'étudier des applications du carboxyméthyl-ARA (CMARA, en anglais : CMHAS) comme matériau filmogène et pouvant former des enrobages.

La recherche était axée sur une nouvelle application pour un nouveau matériaux, le CMARA (carboxyméthylamidon riche en amylose). Comme il est relativement peu connu, une revue de la littérature a été faite sur l'ensemble des amidons modifiés pour comparer leurs propriétés filmogènes.

Les sujets traités étaient sur des types d'amidons, leurs différentes propriétés, les applications, les propriétés intellectuelles et les tests physico-chimiques de caractérisation.

L'objectif primaire était d'étudier les propriétés filmogènes de différents CMARA en vue d'utilisation pour des enrobages gastro-résistants. Les objectifs secondaires étaient de : 1) comparer l'effet de quelques paramètres de synthèse sur le degré de substitution du CMARA, 2) évaluer la nécessité et l'impact de l'ajout de différents plastifiants, 3) déterminer les paramètres importants pour formuler des films de CMARA et 4) enrober des comprimés avec différents CMARA ou d'autres excipients et comparer leur efficacité pour protéger durant le transit gastrique.

Pour la carboxyméthylation en phase aqueuse, deux temps de gélatinisation ont été comparés.

Les paramètres influençant les films d'amidon ont été repérés dans la littérature. Certains ont été choisis comme lignes directrices pour l'ajout de plastifiant et pour les tests à effectuer. Le CMARA est connu en tant qu'excipient pouvant former des matrices monolithiques par compression directe des poudres. Les caractéristiques structurales ont donc été comparées entre les poudres, les comprimés monolithiques et les films obtenus à partir des mêmes matériaux.

Résultats - La carboxyméthylation de l'ARA a donné des matériaux avec des propriétés différentes en variant certains paramètres de la réaction. Le temps de gélification a influencé la cristallinité des matériaux. Les poudres complètement amorphes formaient facilement des gels.

Les comprimés de CMARA ont résisté au transit dans le fluide gastrique simulé (SGF) mais ont montré différents temps de dissolution dans le fluide intestinal simulé (SIF). La présence de plusieurs modifications (*i.e.* des groupes anioniques et cationiques) augmente la solubilité et la formation de gel.

Les poudres qui étaient cristallines ont nécessité du chauffage pour se solubiliser et former des solutions filmogènes. L'utilisation de plastifiant a amélioré l'aspect et les propriétés mécaniques des films. Les films d'ARA non-modifié ou faiblement modifié étaient insolubles. La solubilité des films a augmenté à la suite des modifications. En présence d' $\alpha$ -amylase, tous les films se sont dissouts en 2 h.

Des enrobages ont été appliqués directement sur des comprimés monolithiques chargés avec un agent actif (acétaminophène) comme traceur. Ces formulations ont montré une faible libération de l'agent actif dans le SGF. Plusieurs des matériaux synthétisés ont finalement été formulés en solutions aqueuses et ont été appliqués sur des comprimés à l'aide d'une enrobeuse industrielle. Les comprimés placebo à désintégration rapide avec un enrobage de CMARA à 10% de gain de poids ont résisté 2h en SGF. Il a été possible, en ajustant certains paramètres de synthèse, d'ajuster la solubilité des dérivés. L'humidité a eu un impact moindre sur les films avec sorbitol dont le séchage était plus rapide.

Conclusions - Les résultats de cette recherche ont des implications importantes pour l'industrie pharmaceutique, les prestataires de soins de santé et les patients. L'utilisation de dérivés de carboxyméthylamidon comme matériau d'enrobage de comprimé a le potentiel d'améliorer l'efficacité des médicaments, d'optimiser les schémas thérapeutiques et d'améliorer l'expérience du patient. De plus, leur nature respectueuse de l'environnement s'aligne sur les objectifs plus larges de soins de santé durables et d'atténuation de l'impact environnemental associé aux matériaux de revêtement synthétiques.

Mots clés : amidon filmogène, modifications anioniques et cationiques, degré de substitution

## ABSTRACT

Title: Carboxymethyl starch as excipient for coating of pharmaceutical solid formulations

This thesis presents a section of literature review, including a published review article, and an experimental section with two journal articles (one in the manuscript form). The aim of this work was to study the applications of high amylose starch (HAS) and derivatives as film-forming materials to coat tablets. The experimentation was focused on a new application as tablet coating for carboxymethyl HAS (CMHAS), and other HAS derivatives, as relatively new excipients. The literature review was conducted on all types of modified starch to compare their film-forming properties. The subjects discussed were the starch types, their different properties, applications, the intellectual properties, and the physico-chemical testing. The primary objective was to study the film-forming properties of different CMHAS. The secondary objectives were:

- 1) to evaluate the effects of some parameters on the CMHAS synthesis,
- 2) to investigate the necessity and impact of plasticizers,
- 3) to establish the important characteristics of the films,
- 4) to apply the selected materials as tablet coatings and compare their enteric properties.

The important parameters of the CMHAS synthesis were identified in the literature and investigated for their impact on the degree of substitution (DS). For the films, the literature was also investigated to select parameters supporting the choice of plasticizers and the testing methods. The CMHAS is known as a matrix-forming excipient for monolithic tablets obtained by direct compression of powders. Contrarily to the CMS obtained from potato starch that is a disintegrant excipient, the CMHAS (obtained from HAS), at a proper DS, is less soluble and releases the drugs slowly, allowing protection against the stomach acidity and intestine-targeted release. The structural characteristics were compared between the powders, tablets, and films. Selected film-forming material were then used to coat monolithic tablet cores made at UQAM.

Results - The different obtained CMHAS showed various characteristics. The gelatinization method had an impact on the crystallinity of the materials. The amorphous powders were easily forming gels in cold water. The tablets made of CMHAS loaded with acetaminophen as tracer resisted to the transit in the simulated

gastric fluid (SGF) and showed different dissolution times in the simulated intestinal fluid (SIF). Various modifications on HAS increased the solubility and the gel-forming capacity. The powders presenting a certain crystallinity required a strong heating to generate film-forming solutions. The addition of plasticizers improved the shape and the mechanical properties of the films and they had different solubilities depending on the type of modifications applied on HAS. In presence of  $\alpha$ -amylase, all the films were dissolved. The CMHAS-based coatings applied on the monolithic tablets reduced the drug release in SGF and could afford gastro-protection of the cores for further dissolution in the intestine. The thickness of the coatings greatly impacted the release time of the drug.

Conclusions - The results of this research have important implications for the pharmaceutical industry, healthcare providers and patients. The use of carboxymethyl starch derivatives as a tablet coating material has the potential to improve drug efficacy, optimize treatment regimens, and improve patient experience. Additionally, their eco-friendly nature aligns with the broader goals of sustainable healthcare and mitigating the environmental impact associated with synthetic liner materials.

Keywords: film-forming starch, anionic and cationic modifications, degree of substitution

## INTRODUCTION

Dans le domaine de la médecine, les progrès ne se limitent pas uniquement aux nouveaux composés thérapeutiques ou aux traitements révolutionnaires ; ils englobent également des approches innovantes dans les systèmes d'administration de médicaments. L'une de ces frontières se situe dans le domaine de la médecine du revêtement, où les méthodes traditionnelles reposent sur des matériaux synthétiques. Cependant, une voie de recherche en plein essor a émergé, visant à exploiter le pouvoir de la nature elle-même comme méthodologie de revêtement médical.

L'amidon est une source d'énergie, autant pour les plantes qui le fabriquent que pour les organismes qui le métabolisent. C'est aussi une matière naturelle et dégradabile qui peut former des composites de toutes sortes. Il est, comme la cellulose et le chitosane, un biopolymère très abondant dans la nature. Sans goût, incolore, inodore, il est très utile en alimentation et dans le domaine pharmaceutique. Accessible et abordable, il est aussi une matière première utile pour des emballages biodégradables. La dégradation enzymatique de l'amidon par l' $\alpha$ -amylase est un procédé essentiel en alimentation. En industrie pharmaceutique, cette susceptibilité à l' $\alpha$ -amylase en fait un excipient fonctionnel versatile avec la possibilité d'ajuster la solubilité de l'amidon pour varier les temps de désintégration des formulations.

L'amidon riche en amylose (**ARA**) s'est démarqué des autres amidons grâce à des propriétés particulières. Diverses modifications chimiques en phases aqueuses ont généré des matériaux formant des comprimés monolithiques par compression des poudres dans des moules. Les matrices de comprimés à base d'ARA modifié ont supporté des hautes charges de médicament. Notamment, la réticulation et la carboxyméthylation permettent d'obtenir des matrices compactes ayant une solubilité réduite à pH acide. Divers films d'amidons modifiés ou non ont été rapportés mais très peu à base d'ARA, encore moins lorsque réticulé ou carboxyméthylé.

Les formulations orales - Depuis la commercialisation mondiale de l'Aspirine® par Bayer en 1899, les comprimés sont devenus la forme de dosage pharmaceutique la plus répandue. Des médicaments administrés oralement peuvent être absorbés au niveau de la cavité buccale, dans l'estomac, l'intestin grêle et/ou le côlon. Le site d'absorption dépend de la solubilité du médicament et de sa perméabilité. L'efficacité d'un médicament peut être influencée par bien des facteurs comme la décomposition en

différents milieux ou par des enzymes. La livraison d'un médicament doit donc être contrôlée par la formulation.

Les enrobages pour les comprimés - Pour protéger les médicaments de l'humidité, masquer le goût et faciliter l'avalement, des matériaux solubles comme les sucres ou des polymères de petite taille sont utilisés. Ces matériaux se dissolvent rapidement dans l'estomac.

Utilité d'un enrobage entérique - Pour acheminer des médicaments à l'intestin et surtout au côlon, les formulations orales entériques sont les formes les plus acceptées par les patients. Toutefois, les matériaux d'enrobage entérique courants sont synthétiques. L'amidon, s'il n'est pas solubilisé dans l'estomac, peut offrir une libération ciblée à l'intestin due à sa susceptibilité à l' $\alpha$ -amylase, ce qui le rend unique comme polymère.

### **L'état de la question et problèmes qui en découlent**

Question : Est-ce que le CMARA, qui forme des bons comprimés monolithiques entériques, pourrait former des bons enrobages entériques?

### **Problématiques :**

- Quelles propriétés doivent avoir les poudres de CMARA utilisées pour générer des solutions filmogènes et donc quelle méthode de fonctionnalisation est plus adéquate.
- Quelles sont les propriétés des films de CMARA et comment les définir.
- Quels matériaux pourront améliorer les films de CMARA et comment les évaluer.
- Comment appliquer des enrobages sur des comprimés à l'échelle expérimentale.

### **Les objectifs à atteindre**

En premier, ce travail veut montrer que le CMARA utilisé comme excipient pour des comprimés monolithiques peut aussi être utilisé pour former des films et des enrobages.

- Synthétiser différentes variantes de CMARA et évaluer leur capacité filmogène.
- Caractériser et comparer les comprimés, les films et les enrobages.



- Établir une relation entre les modifications et les propriétés des formes obtenues (comprimés, films, enrobages).

### **Les méthodes utilisées**

Modification de l'amidon - L'éthérisation de Williamson a été découverte en 1850 par A. W. Williamson et consiste à faire réagir un alcool avec un halogénure d'alkyle (Wisniak, 2009). Ainsi la réaction entre l'amidon et le chloroacétate permet d'obtenir le CMA en phase aqueuse. Différentes modifications ont aussi été effectuées comme la réticulation et l'amination. L'impact de la méthode de gélatinisation a également été évalué. Les dérivés sous les formes de poudres, comprimés et films ont été caractérisés avec les mêmes techniques (DRX, FTIR, MEB et TGA) afin de comparer leurs caractéristiques structurales.

Dans une première étape, des comprimés ont été obtenus par compression directe des poudres et caractérisés par leur dureté et leur cinétique de dissolution dans le fluide gastrique (SGF) ou intestinal (SIF) simulé.

Des films ont été obtenus par casting : les solutions filmogènes aqueuses d'amidon ont été coulées dans des moules et séchées par évaporation. Les films ont été caractérisés par leurs propriétés mécaniques, leur contenu en eau, DRX, FTIR, MEB, TGA et leur solubilité dans le système SGF/SIF.

Des comprimés monolithiques ont été enrobés un par un en appliquant et en séchant la solution filmogène à l'air chaud. Ils ont été caractérisés par leur temps de dissolution en fonction du poids d'enrobage. Leur capacité à retarder la libération d'un agent actif a aussi été comparée.

### **La démarche adoptée**

A) Divers dérivés d'amidon ont été synthétisés et caractérisés sous les formes de poudres, comprimés, films et enrobages pour discuter des changements structuraux. Les dérivés d'ARA ont été comparés avec ceux des amidons réguliers.

B) Les possibilités d'utiliser FTIR pour déterminer le DS ont été évaluées. Le DS a été mesuré par titration sur différents amidons et comparé avec les intensités des bandes FTIR.

Formes analysées - Afin de montrer que le même CMARA utilisé comme excipient pour les comprimés monolithiques pourra être utilisé pour former des films et des enrobages, les caractéristiques des poudres et des films ont été comparées avec celles des comprimés monolithiques.

Les films - Le procédé d'obtention des films a été évalué selon quelques aspects. Pour la solution filmogène : la concentration d'amidon, le chauffage, la concentration de plastifiant. Pour le casting : la température, le volume de solution coulée, l'humidité relative ambiante. Ils ont été comparés à Lycoat®, le seul amidon commercial pour l'enrobage des comprimés. Lycoat® est un amidon de pois hydrolysé et modifié, ayant une grande solubilité.

Les enrobages - L'enrobage des comprimés a été évalué visuellement en premier lieu, selon la concentration de la solution filmogène, le nombre de couches appliquées, la forme du comprimé (noyau). Ensuite, des matériaux ont été sélectionnés selon la solubilité de leur film et appliqués comme enrobages. Ils ont été caractérisés par leur aptitude à retarder la libération d'un médicament.

### **La structure de la thèse**

Cette thèse par articles propose en première partie une revue de la littérature contenant un article de review déjà publié par le candidat comme auteur principal.

La partie expérimentale est présentée sous forme de deux articles dont un publié et un soumis dans des journaux avec le candidat comme auteur principal. Des analyses additionnelles se trouvent dans la discussion et en annexes.

## **PARTIE I – REVUE DE LA LITTÉRATURE**

## CHAPITRE 1

### ARTICLE DE REVUE. L'AMIDON MODIFIÉ : APPLICATIONS PHARMACEUTIQUES ET BIOMÉDICALES

Marc-André Labelle, Pompilia Ispas-Szabo et Mircea Alexandru Mateescu\*

Ce chapitre a été publié sous forme de review avec le titre : 'Structure-Functions Relationship of Modified Starches for Pharmaceutical and Biomedical Applications' dans **Starch – Stärke** (2020), 72, p. 2000002 (1-13).

Contribution de l'auteur principal et des co-auteurs

Marc-André Labelle – Rédaction, figures, recherches bibliographiques

Pompilia Ispas-Szabo – Rédaction, supervision du projet

Mircea Alexandru Mateescu – Supervision du projet et révision du manuscrit

## Résumé

L'amidon modifié est très utilisé dans les sciences pharmaceutiques et biomédicales. Différentes modifications comme la fonctionnalisation, la réorganisation de la structure ou la dépolymérisation peuvent être utilisées pour ajuster le caractère ionique, l'hydrophilicité, la mucoadhésion, la susceptibilité à l'amylolyse par l' $\alpha$ -amylase ou la porosité. Ces modifications physiques, chimiques ou enzymatiques permettent de moduler et d'adapter les propriétés de l'amidon pour différentes utilisations comme excipients pour comprimés, transporteurs de médicaments, timbres transdermiques, solutions injectables, revêtements de blessure, embolisants transitoires, matrices de tissu et prothèses. Par la compréhension de la structure de l'amidon, cette revue de la littérature vise à faciliter la conception de nouveaux matériaux à base d'amidon pour des applications pharmaceutiques et biomédicales. La corrélation entre la structure et les propriétés a été analysée et différents phénomènes ont été discutés dans cette perspective, avec un regard particulier sur les fonctionnalités envisagées pour les nouveaux matériaux d'amidon.

Mots clés : dérivés d'amidon, modifications combinées, libération modulable des médicaments, theranostiques, biodispositif

## **Structure-Functions Relationship of Modified Starches for Pharmaceutical and Biomedical Applications**

Marc-André Labelle, Pompilia Ispas-Szabo and Mircea Alexandru Mateescu\*

Department of Chemistry, Research Chair on Enteric Dysfunctions 'Allerdys',

CERMO-FC Center, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.

\*Author to address communication

Email: [mateescu.m-alexandru@uqam.ca](mailto:mateescu.m-alexandru@uqam.ca)

Tel: 514-987-4319

Published article: Labelle, Marc-André, Ispas-Szabo, Pompilia et Mateescu, Mircea Alexandru. (2020). Structure-Functions Relationship of Modified Starches for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Starch - Stärke*, 72, p.2000002

Contribution from first author and secondary authors

Marc-André Labelle – Redaction, figures, literature research

Pompilia Ispas-Szabo – Redaction, supervision of the project

Mircea Alexandru Mateescu – Supervision of the project, manuscript review

## Abstract

Modified starch is widely used in pharmaceutical and biomedical sciences. Various modifications such as functionalization, reorganization of the structure or depolymerization may be used to tune ionicity, hydrophilicity, mucoadhesion, susceptibility to amylolysis by  $\alpha$ -amylase or porosity. These chemical, physical or enzymatic modifications modulate and adapt the properties of starches to different usages as tablet excipients, drug carriers, transdermal patches, injectables, wound dressing materials, transient embolizants, scaffolds and stents. Through an understanding of the starch structure, this review aims to enlighten the pertinence to design new starch materials for biomedical and pharmaceutical applications. The correlation structure-properties is revisited and phenomena are discussed from this perspective, with particular interest for the envisaged functionality of new starch-based materials.

Keywords: Starch derivatives; Combined modifications; Tunable drug release; Theranostics; Biodevices

Abbreviations: CLD: cross-linking degree, CMS: carboxymethyl starch, DS: degree of substitution, HAS: high amylose starch, IBD: inflammatory bowel disease, PEC: polyelectrolyte complex, PVA: polyvinyl alcohol, SSG: sodium starch glycolate

## 1.1 Introduction

There is a rising interest in pharmaceutical and biomedical sciences for biocompatible and biodegradable materials. In the human body, starch is degraded due to its susceptibility to amylolysis by  $\alpha$ -amylase. There are large amounts of pancreatic  $\alpha$ -amylase liberated in the intestinal lumen and limited amounts of circulatory  $\alpha$ -amylase liberated by salivary glands. Certain biomedical applications of starch biomaterials (*i.e.* transient embolizing agents, temporary occludants, degradable implants) are based on this limited susceptibility to  $\alpha$ -amylase, a parameter that may be modulated by various physical, chemical and enzymatic processes (O'Donnell et McGeeney, 1983).

The multiple applications of starch are interrelated to its structural features. Starch organization and composition (amylose content, degree of polymerization) vary with the sources and impact its physical properties and its behavior in various processes (*i.e.* gelatinization and retrogradation). The various structural organizations of starch are the result of self-assembly phenomena at macromolecular level. The driving forces of the self-assembly are weak physical interactions including hydrogen bonding, electrostatic interactions, hydrophobic associations and Van der Waals forces. The hydrophilicity/hydrophobicity ratio and the presence of ionic charges on polymeric chains have a major influence on starch stabilization under different geometry (Ispas-Szabo *et al.*, 2017b). Certain modifications operated on starch are aimed to change the hydrophilic/hydrophobic pattern and/or the ionic character of the chains that will impact properties such as their self-organization under external interactions. Intramolecular interactions are responsible for the conformation of the molecular conformation conducting to a specific secondary structure (helix, random coil) while the types of starch crystals are related to organization at nanoscale level (*i.e.* square-like nanocrystals). The intermolecular non-covalent interactions are responsible of self-assembled nano-structures, *i.e.* micelles, spherulites, cyclodextrins, quantum dots (Le Corre *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2019a). Certain modifications of starch may diminish crystallinity and induce structural reorganization leading to desired properties *i.e.* increased swelling or higher porosity. The new obtained characteristics allow, for example, encapsulation of bioactive agents, modulation of drug release rate from pharmaceutical dosages and preparation of biodegradable biomedical devices.

To better correlate starch structure and its functions, in this review the modifications leading to various applications are presented in four categories: 1) physical, 2) chemical, 3) enzymatical and 4) combined



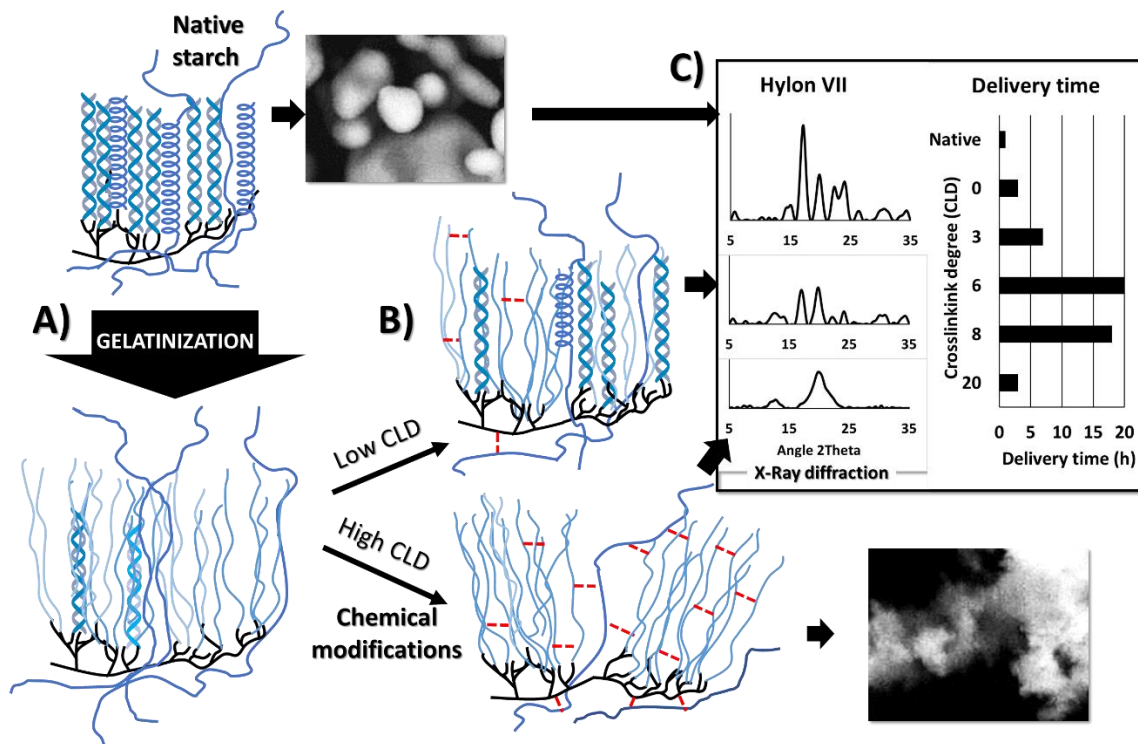
modifications, and the vast usage of starch in pharmaceutical and biomedical fields is revisited from this perspective.

### 1.1 Physical modifications

**Gelatinization** is a key process in starch modification consisting in disorganization of compacted crystalline structures with the aim to eventually introduce a new order in the system. When the H-bonds in the helical forms are disrupted, the chains can adopt a random coil conformation, allowing the structure to swell and amylose to leach out (**fig. 1.1A**).

In high amylose starch (HAS), with 70 % or more amylose content, the amylose acts like an armature. The structure is less crystalline and more entangled which translates in increased gelatinization temperature, lower solubility and susceptibility to amylolysis by  $\alpha$ -amylase (Patel *et al.*, 2017). Regular starches may be gelatinized by hydrothermal treatment but HAS requires a higher gelatinization temperature and/or alkaline treatment to disrupt the hydrogen bonding (Jane *et al.*, 1999). The impact of hydrothermal and alkaline gelatinization methods is evident on the behavior of pharmaceutical starch excipients: the hydrothermal treatment of starch gave erodible and soluble pills whereas the alkaline-treated starch could form a network, generating hydrogels (Biduski *et al.*, 2018). Hydrothermal treatment of starch at temperature above the glassy temperature but below the gelatinization temperature (annealing) resulted in reorganization of the structure with increased crystallinity (Tester et Debon, 2000). This phenomenon happens due to hydration of the amorphous layers, seen by expansion of the structure, allowing reorganization of the chains (Xu *et al.*, 2018). The structural reorganization is influenced by the flexibility of the amylopectin, related to the starch type (Waigh *et al.*, 2000).

Pre-gelatinized corn starches such as Starch1500® (Colorcon) are good binders and fillers (Rojas *et al.*, 2012). The structurally disorganized starch exhibits better compressibility and forms hard tablets by direct compression. On the other hand, cast films of gelatinized, unmodified HAS presented cracks, explained by remaining crystallinity of amylose whereas amylopectin cast films were amorphous (Dimantov *et al.*, 2004; Rindlav-Westling *et al.*, 2002). To obtain a more rubber-like behavior, most starches are modified or associated with other compounds as plasticizers.



**Figure 1.1 Schematic representation of the structural changes in starch** : A) gelatinization of high amylose starch. B) cross-linking at different degree generates new organizations by self-assembling; C) the crystallinity at different cross-linking degree was related to the drug release time from monolithic tablets. The native starch (*i.e.* Hylon VII) has many crystalline peaks but after modification, the structure is mainly amorphous. Section C adapted from reference (Ispas-Szabo *et al.*, 2000).

**Association with other materials.** Once the structure is altered, gelatinized starch may be associated with other polymers to add new functional features to composites. Shape memory materials were created modulating starch capacity to swell and its degradability by  $\alpha$ -amylase (Beilvert *et al.*, 2014a; Sessini *et al.*, 2018). Its morphological changes were used in applications ranging from fast disintegrating films to fibers, scaffolds and stents (Beilvert *et al.*, 2014b; Davachi *et al.*, 2017; Garcia *et al.*, 2018; Giri Dev et Hemamalini, 2018; Goimil *et al.*, 2017; Hadisi *et al.*, 2015; Nourmohammadi *et al.*, 2016; Waghmare *et al.*, 2018).

The erosion rate of the pharmaceutical dosage forms can be tuned by association with other polymers (Khlisuwan *et al.*, 2018; Zhu *et al.*, 2019b). Sodium alginate interacted with gelatinized starch gel via hydrogen bonding enhancing the system viscosity and allowing a higher entrapment of sodium diclofenac into the beads compared to ungelatinized starch (Khlisuwan *et al.*, 2018).

Various commercial pre-gelatinized starches were formulated as oral fast disintegrating films. The AMIDOMAX®3600 (Cargill Ltd., Brazil) was used with gelatin (to lower solubility) to formulate fast

disintegrating films for vitamin C administration (Garcia *et al.*, 2018). Daktarin© oral gel is a quick-dissolving orodispersible film of miconazole containing pre-gelatinized potato starch (Lefnaoui et Moulai-Mostefa, 2014).

Starch may be associated with nanomaterials as graphene to enhance its conductivity. With a high surface area, the starch-graphene material was used to build a molecular imprinting probe to estimate transferrin in blood (Srivastava *et al.*, 2019). Such reusable probe with a detection limit of 20 ppb represents a great improvement in terms of sensitivity and selectivity.

**In presence of plasticizers**, the behavior of starch passes from glassy to rubbery state and the changes are reflected in glass transition temperature ( $T_g$ ). The structure can be modulated and shape-memory resorbable materials designed. The molecular structure responsible for shape-memory properties combines a permanent and a temporary network. The amylopectin holds the structure together while the addition of plasticizer lowers the  $T_g$ , allowing chain-chain reorganization and shape memory behavior in presence of moisture (Beilvert *et al.*, 2014b). Combination of gelatinized potato starch, waxy starch nanocrystals, glycerol and catechin (as antioxidant) generated multifunctional hydrophilic films exhibiting shape memory upon rehydration (Sessini *et al.*, 2018). Extruded potato starch/glycerol biomaterials exhibiting shape-memory could be resorbed after up to 21 days following their immersion in aqueous media presenting also a low inflammatory response (Beilvert *et al.*, 2014a). Salivary duct stents were used after sialendoscopic surgery to maintain the salivary duct open. The plasticized starch stent showed shape-memory properties and was proposed as a self-deploying stent (Beilvert *et al.*, 2014b).

**By electrospinning**, the starch macromolecules are allowed to dry as narrow filaments. Interlacing of these filaments creates a spaced network with high porosity and increased surface area. By tuning the size of nanofibers, it is possible to fabricate at larger scale tissues and 3D materials for wound dressing. The electrospinning gave brittle, weak starch fibers. This may be corrected by addition of other polymers such as polyvinyl alcohol (PVA) and chitosan. Electrospun PVA/chitosan/starch fibers were more flexible with enhanced antibacterial activity and water absorption capacity (Adeli *et al.*, 2019).

Mucoadhesive composite fibers based on starch (*i.e.* starch-gelatin, starch/PVA and starch/polycaprolactone) offer a biocompatible, biodegradable, flexible support with increased surface area for cell proliferation and attachment showing good blood clotting rates (Giri Dev et Hemamalini, 2018; Waghmare *et al.*, 2018). Due to their hydrophilicity and high absorption capacity, the liquid is absorbed

and the blood solids aggregate on surface. Using starch/ gelatin/ herbal extract composite fibers, the healing was fast *in vivo* and with lower inflammatory response than gauze (Hadisi *et al.*, 2018).

Electrospun HAS fibers, with linear structure, were stronger and proposed for tissue engineering whereas ramified amylopectin-rich fibers were weak and brittle and convenient for drug release (Vasilyev *et al.*, 2019). Forming a network between starch and other polymers reduces the retrogradation and the brittleness. Thus, the amorphous chains expose their hydroxyls on the surface, which is beneficial for mucoadhesion.

**Tissue engineering** helps the regeneration of damaged tissues by using scaffold-shaped biological substitutes (Hadisi *et al.*, 2015). These materials require biodegradability, porosity (for cell proliferation) and cytocompatibility. Natural polymers as starch are similar (but not identical) as texture to the extracellular matrix, offering good interactions and compatibility. Silver-embedded potato starch-PVA antibacterial materials were developed for soft tissue engineering and showed good cell proliferation and degradability over one month (Wadke *et al.*, 2017).

Bone scaffolds require also good mechanical strength and therefore, starch was associated with other polymers, generating composites of starch blended with polycaprolactone, polylactic acid, chitosan and/or silk fibroin, all with good cell attachment (Davachi *et al.*, 2017; Goimil *et al.*, 2017; Hadisi *et al.*, 2015; Nourmohammadi *et al.*, 2016). The surface of starch-based biomaterials is easily sterilized by UV irradiation or plasma cleaning (“etching”), two cost-effective methods (Pashkuleva *et al.*, 2010). Association of starch with PVA resulted in a nontoxic and cytocompatible material with good elastic behavior and with only 40 % degradation by  $\alpha$ -amylase over 3 months (Susano *et al.*, 2014). Blends of starch and polyethylene glycol (PEG) processed into a repairing bone wax had better adhesion than other commercial waxes. The presence of pre-gelatinized starch enhanced the molding texture (Suwanprateeb *et al.*, 2014). The starch-PEG was degraded and did not inhibit osteogenesis. A mixture of silicone and corn starch was used for creation of auricular frameworks.

Using 3D imaging from computed tomography, a simulated cartilage was produced, with texture and firmness similar to human cartilage (Berens *et al.*, 2016). Such resorbable materials with modulable biodegradability may remain functional for a determined time laps and can degrade gradually. Starch-hydroxyapatite bone scaffolds with improved mechanical strength showed an increase in proliferation of osteoblast cells *in vitro* (Flores-Arriaga *et al.*, 2017; Koski *et al.*, 2018).

In conclusion, physical modifications of starch can be used to generate at supramolecular level a new organization of polyglucosidic chains without operating any change of starch chemistry. New properties were obtained only from remodeling the way how starch-based systems stabilize themselves intramolecularly and/or intermolecularly (themselves or with other molecules).

The gelatinized starch is a metastable system where the polyglucosidic chains are self-assembled spontaneously and stabilized under new forms (random coils, double or single helices). This physical process known as *starch gelation* consists in creation of an extended and stable polymeric network obtained by simple self-assembling phenomena. Addition of other entities (*i.e.* polymers, plasticizers) offers an expanded panel of structures and implicitly new applications.

## 1.2 Chemical modifications

Chemical modifications operated on starch chains can greatly impact their capacity of organization under various conformations (*i.e.* helices, random coils) and offer additional tools to modulate their self-assembling. Various products for pharmaceutical or biomedical applications were obtained by cross-linking, grafting of new functional groups or complexation reactions. Interesting to note is the fact that the capacity of starch to self-assembly in helical forms differentiates completely its behavior compared to synthetic polymers. More generally, the ratio between order (expressed under various forms *i.e.* presence of helices and crystals) and disorder (*i.e.* amorphous structures) of the system is a key element to obtain specific properties (Mateescu *et al.*, 2006).

### 1.2.1 Cross-linking

Several years ago, the concept of *minor alterations may trigger major modifications* in self-assembling starch excipient opened the way to produce, with the same chemistry, totally different starch excipient materials (Mateescu *et al.*, 2015; Mateescu *et al.*, 1995). For instance, Contramid® excipient for sustained drug release was obtained at low cross-linking degree (CLD) whereas a binder-disintegrant was obtained at slightly higher CLD (Cartilier *et al.*, 1997; Dumoulin *et al.*, 1994; Ispas-Szabo *et al.*, 2000; Lenaerts *et al.*, 1998; Mateescu *et al.*, 1995). The only difference was a minor variation in cross-linking level, but the structural and functional impact was major: low CLD allows enough flexibility of chains to establish hydrogen associations in addition to cross-linking bridges, stabilizing the matrix, limiting hydration and enhancing the release time (**fig. 1.1B**).

It was shown that starch crystallinity is related to the CLD and impacted significantly the drug release time, **fig. 1.1C** (Ispas-Szabo *et al.*, 2000). Differently, a higher CLD hinders the hydrogen associations for steric reasons: thus, the hydroxyl groups are free to hydrate, favoring the tablet disintegration. Contramid® was patented as a good matrix-forming for drug slow-release (Mateescu *et al.*, 1995; Ravenelle et Rahmouni, 2006). With quasi-zero order drug release pattern over 12-24h, it is still used for once-a-day sustained release Tramadol commercial tablets.

Contramid® was also used to generate subcutaneous and intramuscular implants for local antibacterial therapy (Huneault *et al.*, 2004). They were obtained by direct compression of powder blends. As example, the implants containing ciprofloxacin could prevent and treat osteomyelitis with conclusive *in vivo* trials. No local adverse reaction occurred, the drug level was above the minimum inhibitory concentration for at least 28 days and a time-dependent resorption was observed (Huneault *et al.*, 2004).

Transarterial chemoembolization may contribute to inhibition of tumor growth by producing transient ischemia, favoring local delivery of chemotherapeutics to prompt tumor necrosis (Poursaid *et al.*, 2016). Permanent embolization agents may induce foreign body reactions, inflammation or ischemia-triggered neoangiogenesis (Sommer *et al.*, 2018a). Differently, starch degradable microspheres, being susceptible to slow hydrolysis by circulatory  $\alpha$ -amylase, allowed the same treatment without permanent embolization. Although the level of  $\alpha$ -amylase in blood is low, it is enough to clear the CL-Starch microspheres, re-establishing the blood flow.

For several years, injectable CL-starch microspheres have been commercialized under the trademark Spherex® (Pharmacia Uppsala) and EmboCeptS® (Pharmaceut) aiming to limit side effects of radiotherapy and prevent heat dissipation during hyperthermia treatments of tumors (Hakansson *et al.*, 1997). EmboCeptS® showed a higher efficiency to inhibit metastatic growth than another embolization agent (Lipiodol®) and a reduction of tumor size, comparable to PVA-based DC Beads® (Ziemann *et al.*, 2019).

## 1.2.2 Substitution

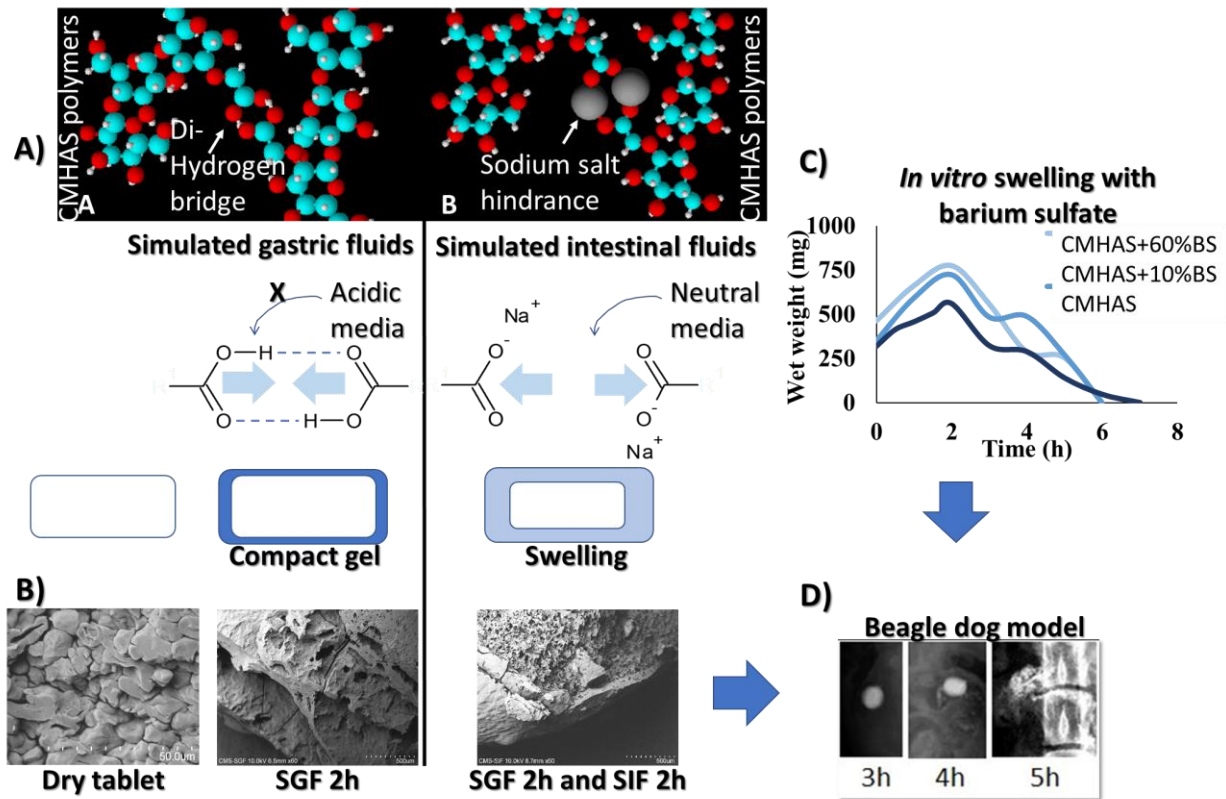
### 1.2.2.1 Starch ionic derivatives

The self-assembling capacity can be reinforced or weakened by the presence of electrostatic charges. Stimuli-responsive hydrogels (*i.e.* pH-sensitive) were considered with particular focus on pharmaceutical applications. Depending of the type of charge (anionic, cationic) and of its location (on the same or

different chains) the attractive /repulsive electrostatic forces may impact the conformation of the chains and consequently their geometry and stabilization.

**Anionic** carboxymethyl starch (CMS) was largely used as pH-responsive pharmaceutical excipient. The aqueous carboxymethylation of HAS (low DS) produced a semi-amorphous starch excipient. By protonation of carboxylic groups in gastric acidity, an outer compact layer is formed, preventing the acidic medium to penetrate the tablet (**fig. 1.2**), offering thus protection against gastric acidity. In the intestinal fluid, the outer CM groups are deprotonated, ionized and hydrated. The tablet swells, and by erosion or disintegration, releases the drug. These structural changes phenomenon (schematically presented in fig. 1.2) was valorized in formulation of gastro-resistant tablets for oral delivery of various drugs including macromolecular bioactive agents such as pancreatic enzymes, diamine oxidase, *F4 fimbriae* oral vaccine, *Escherichia coli* and probiotics as *Lactobacillus rhamnosus* (Calinescu et Mateescu, 2008; Calinescu *et al.*, 2012; Calinescu *et al.*, 2005; Calinescu *et al.*, 2007; Massicotte *et al.*, 2008). These bioactive agents were well protected, the presence of CM groups offering additional stability against gastric acidity and counter to the intestinal  $\alpha$ -amylase. In the last decades, challenging colon-targeting formulations were successfully designed using CMHAS (**table 1.1**). A CMHAS tablet containing 30 % of a protein model and a radio-opacifier was followed *in vivo*, during its intestinal transit by X-ray (Labelle *et al.*, 2019). The CMHAS-based formulation had similar disintegration times (4h30) *in vitro* and *in vivo* (**fig. 1.2C**). The carboxylic functions also increased the starch bioadhesion. The CMS was processed into microspheres and cross-linked for gastric and colonic delivery (Lemieux *et al.*, 2015). These microspheres were retained on gastric mucosa in acidic conditions and allowed a sustained delivery of active agents (furosemide), increasing its bioavailability (Lemieux *et al.*, 2011; Lemieux *et al.*, 2015).

Formulation of low soluble drugs remains highly challenging. A recent controlled release form of ibuprofen was formulated with ionically stabilized CMHAS excipients. An *in vivo* equivalence study with “Two Release Rates”/TwoRR showed that ibuprofen formulated with CMHAS stabilized with  $\text{Ca}^{2+}$  ions presented over 24 h an equivalent bioavailability (on a beagle dog model) with three classical dosage forms of Motrin® (Le Tien et Mateescu, 2017).



**Figure 1.2** Schematic representation and X-ray follow-up of the CMS offering protection in acidic media due to formation of dimers. A) In acidic medium (SGF), the CMS is protonated and the CM-groups form dimers; in neutral media (SIF) they are deprotonated and ionized. The sodium of the carboxylate causes a hindrance, allowing penetration of the fluid. B) The scanning electron microscopy of the lyophilized tablets revealed the compact grains on the surface of dry tablet. After 2h in SGF, a gelatinized network is observed. After 2h in SGF and 2h in SIF, a smooth hydrophilic gel begins to form on surface; C) *In vitro*, the tablet CMS-barium sulfate (BS) swells a little in SGF and begins to solubilize in SIF; D) *In vivo* tracing of the same tablets CMS-BS. B) and D) are adapted from ref (Labelle *et al.*, 2019).

**Octenyl-succinate** starch has steric hindrance and amphiphilic features due to polar character of the anionic carboxylate and to its hydrophobic lateral chain. It can stabilize emulsions and is less affected by pH than other stabilizers as proteins (Tesch *et al.*, 2002). Capsul<sup>®</sup>TA (octenyl-succinate tapioca starch, Ingredion) and N-Lok<sup>®</sup> (octenyl-succinate waxy corn starch, Ingredion) were used to encapsulate an antifungal agent in alginate films for buccal delivery and are suitable for encapsulation of probiotics by spray-drying (Cossu *et al.*, 2015; Hernández-López *et al.*, 2018).



**Table 1.1 Pharmaceutical applications of high amylose starch derivatives in monolithic tablets. TMA-CM-HAS: trimethylammonium-carboxymethyl-starch. AE-CM-HAS: aminoethyl-carboxymethyl-starch.**

Derivative	Application	Reference
HAS-CL	Controlled drug release	(Ispas-Szabo <i>et al.</i> , 2000)
AE-HAS-CL CM-HAS-CL Ac-HAS-CL	High loadings and controlled release	(Mulhbacher <i>et al.</i> , 2001)
HAS-CL	Structure-property relationships in films	(Rioux <i>et al.</i> , 2002)
CMHAS	Anti E. coli agent	(Calinescu <i>et al.</i> , 2005)
CMHAS	F4 Fimbriae as swine vaccines	(Calinescu <i>et al.</i> , 2007)
CMHAS	Swine vaccines clinical trials	(Delisle <i>et al.</i> , 2012)
CMHAS	Pancreatic enzymes	(Massicotte <i>et al.</i> , 2008)
CMHAS/chitosan	Probiotic colon delivery	(Calinescu et Mateescu, 2008)
CMHAS/chitosan	Diamine oxidase	(Calinescu <i>et al.</i> , 2012)
CMHAS	Impact of drying method on drug release	(Lemieux <i>et al.</i> , 2010)
CMHAS	Impact of protonation ratio on drug release	(Assaad et Mateescu, 2010)
CMHAS/chitosan	NMR monitoring of tablet hydration	(Wang <i>et al.</i> , 2011)
CMHAS/chitosan	Polyelectrolytic complex (PEC)	(Assaad <i>et al.</i> , 2012)
CMHAS	Complex with lecithin	(Friciu <i>et al.</i> , 2013)
TMA-CM-HAS	Ampholytic starch for controlled release	(Sakeer <i>et al.</i> , 2018)
AE-CM-HAS	Ampholytic starch for high drug loadings	(Benyerbah <i>et al.</i> , 2019)
CMHAS	In vivo following with barium sulfate	(Labelle <i>et al.</i> , 2019)

**Cationic starch** exhibiting amino groups had higher macrophage response but weaker electrostatic interactions than anionic and zwitterionic starch (Wang *et al.*, 2015). Histidine or arginine cationic starch gold nanoparticles are good carriers for gene delivery and showed high cell viability but low transfection. Their efficiency was increased when modified with L-arginine (Dhanya *et al.*, 2018).

Cationic starch-siRNA nanocomplexes for gene silencing were protected from enzymatic degradation and showed high cellular uptake and successfully prevented specific gene expression in human ovarian adenocarcinoma cells (Amar-Lewis *et al.*, 2014). Gene transfection with plasmids alone is difficult. However, plasmids after complexation with cationic starch, were found in the cells. The spermine grafting generated a type of cationic starch and was also used to complex plasmids (Huang *et al.*, 2017). A higher modification of starch led to better transfection (~40 %).

Table 1.2 Main applications of modified starches and their commercial products

Starch modification	Main characteristics	Applications	Commercial product/Reference
<b>PHYSICAL</b>			
Gelatinization	Forming strong gels	Binder	Starch 1500®
<b>Co-processing</b>			
-with graphene	Increased conductivity, biodegradability	Molecular imprinted probe	(Srivastava <i>et al.</i> , 2019)
	Improving compatibility of graphene nanosheets and preventing their aggregation	Tumor targeting	(Liu <i>et al.</i> , 2015)
-with hydroxyapatite	Mechanical strength, enzymatic susceptibility	Bone scaffolds	(Flores-Arriaga <i>et al.</i> , 2017; Koski <i>et al.</i> , 2018)
-with polyacrylic acid	Bioadhesion	Drug transdermal delivery	Proloc®(Geister <i>et al.</i> , 2015; Nair <i>et al.</i> , 2018)
-with plasticizers	Shape memory	Resorbable stents Hydrophilic films	(Beilvert <i>et al.</i> , 2014b) (Sessini <i>et al.</i> , 2018)
-with PVA/chitosan	Degradability, porosity	Fibers for wound dressing	(Adeli <i>et al.</i> , 2019)
-with PVA		Tissue engineering Fibers for wound dressing	(Susano <i>et al.</i> , 2014; Wadke <i>et al.</i> , 2017) (Waghmare <i>et al.</i> , 2018)
-with polycaprolactone		Wound dressing materials Bone scaffolds	(Giri Dev et Hemamalini, 2018)
-with silicone		Tissue engineering	(Berens <i>et al.</i> , 2016)
<b>CHEMICAL</b>			
Cross-linking	Gel-forming	Matrices for controlled release	Contramid®(Ispas-Szabo <i>et al.</i> , 2000; Mateescu <i>et al.</i> , 2015; Mateescu <i>et al.</i> , 1995)
	Slow degradation by $\alpha$ -amylase	Embolization microspheres Encapsulation of probiotics	Spherex®(Hakansson <i>et al.</i> , 1997; Ziemann <i>et al.</i> , 2019) (Ashwar <i>et al.</i> , 2018)
	Biodegradability and limited swelling	Implants	Contramid®(Huneault <i>et al.</i> , 2004)
<b>Substitution with ionic groups</b>			
-Carboxymethyl starch	Gastro-protection	Monolithic matrices for pH-sensitive formulations	(Calinescu et Mateescu, 2008; Calinescu <i>et al.</i> , 2012; Calinescu <i>et al.</i> , 2005; Calinescu <i>et al.</i> , 2007; Massicotte <i>et al.</i> , 2008)
-Octenylsuccinate	Porosity, emulsifier	Encapsulation of probiotics	Capsul®TA, N-Lok® (Cossu <i>et al.</i> , 2015)
-Folic acid	Increase tumor specificity	Tumor targeting	(Sun <i>et al.</i> , 2018)
-Ampholytic starch	pH-independent ionic hydrogels	High drug loading matrices	(Benyerbah <i>et al.</i> , 2019; Sakeer <i>et al.</i> , 2018; Sakeer <i>et al.</i> , 2017)
-Aminated starch	Increased transfection	Gene delivery	(Amar-Lewis <i>et al.</i> , 2014) (Ye <i>et al.</i> , 2016) (Dhanya <i>et al.</i> , 2018) (Huang <i>et al.</i> , 2017)
-Cystein	Enhanced mucoadhesion	Transdermal delivery	(Gök <i>et al.</i> , 2017)
<b>Substitution with neutral groups</b>			
Hydroxyethyl starch	Slow degradation by $\alpha$ -amylase, biocompatibility	Plasma expander Injectable drug delivery	Voluven® (Noga <i>et al.</i> , 2012) (Adamik et Yozova, 2019; Hamaji <i>et al.</i> , 2013; Hoffmann <i>et al.</i> , 2013; Kang <i>et al.</i> , 2015; Yihui <i>et al.</i> , 2018)
<b>Starch complexes</b>			
-Calcium	Increased hemostatic properties	Hemostats	(Panwar <i>et al.</i> , 2019; Zhu <i>et al.</i> , 2019a)
-Iodine	Releasing iodine upon degradation/hydration	Wound-dressing Diagnosis of hyperhidrosis	Cadexomer® (Bürmann <i>et al.</i> , 2015; Khan et Naqvi, 2006; Sato <i>et al.</i> , 1988; Shoji <i>et al.</i> , 2003)
-Iron oxide and itaconate starch	Magnetic targeting	Tumor targeting	(Poorgholy <i>et al.</i> , 2017)
<b>Grafting</b>			
Methacrylates	Thermal sensitivity	Tumor targeting	(Wang <i>et al.</i> , 2019)
Drug Conjugated with HES	Enzyme-triggered release	Increase half-life	(Yihui <i>et al.</i> , 2018)
<b>ENZYMATIC</b>			
Debranched	Gel-forming; film-forming, porosity	Excipient (films, tablets, granules) for transmucosal delivery	Velox®MCS (Remon <i>et al.</i> , 2012)

**A new ampholytic starch**, CM-AE-HAS, carrying both anionic carboxymethyl (CM) and cationic aminoethyl (AE) groups was proposed as an excipient for targeted drug delivery to lower intestine or colon (Benyerbah *et al.*, 2019; Sakeer *et al.*, 2017). This ampholytic excipient provides an extensive self-stabilization by hydrogen bonding combined with ionic interactions. It was used to formulate highly soluble drugs such as metformin, even at high loading (60 %) and other model drugs from all classes of BCS (Biopharmaceutical Classification System).

Carrying anionic and cationic groups, the ampholytic starch generates a network structure having the capacity to control the drug release irrespective of the pH (Benyerbah *et al.*, 2019; Sakeer *et al.*, 2018; Sakeer *et al.*, 2017). Zwitterionic starch was obtained by modification with sulfobetaine. It showed lower macrophage activation and was more effective *in vivo* to prolong circulation time than starch micelles without sulfobetaine (Ye *et al.*, 2016).

#### 1.2.2.2 Nonionic starch derivatives

The hydrophilicity of starch can be decreased by grafting acetyl or hydroxyethyl groups on carbohydrate chains. Their hydrophobicity and the vicinity with amylose molecules generate a different organization of hydrogen bonds and allowed less water in the gel system. **Acetate high amylose starch** is a filler-binder or matrix-forming material for controlled release having also film-forming properties. It was used to formulate colon-targeting coatings (Bisharat *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2014; Seenivasan *et al.*, 2013). **Hydroxyethyl starch (HES)**, formulated as colloidal suspensions (*i.e.* Voluven<sup>®</sup>, Pfizer), is used as plasma expander to increase the blood volume (in case of hypovolemia). It generated less post-surgery infections compared to conventional sodium lactate solution (Hamaji *et al.*, 2013). The molecular weight of HES is much greater than that of albumin, facilitating the obstruction of pericellular space, reducing the endothelial permeability (Constable *et al.*, 2016). Approved for intravenous infusion, it was also used for tumor targeting.

Plasma expanders were tested for tumor targeting and the *in vivo* biodistribution was followed by NIR imaging using a fluorescent dye conjugated to starch (Hoffmann *et al.*, 2013). A higher tumor specific accumulation was found for HES of 450 kDa, compared to HES 200 kDa and to dextran 500 kDa. Dextran was mostly accumulated in the liver, whereas both HES were distributed homogeneously in organs. It was hypothesized that the more hydrophilic surface of starch prevents its recognition (by the opsonins - serum proteins) in the blood stream. HES of 450 kDa was degraded more slowly and showed a certain

accumulation in mice tumor. These products require biocompatibility, degradability and functionality. HES, with over 60 registered products in Europe, is currently under rigorous evaluation (Adamik et Yozova, 2019).

Aggregation of foreign materials with antibodies (for further phagocytosis) is a first-line defensive mechanism that may greatly reduce circulation time of drug and gene carriers. Highly PEGylated HES nanocarriers showed less interaction with human serum proteins (*i.e.* opsonins) *in vitro* and longer circulation time in plasma (Kang *et al.*, 2015). PEGylation may slow aggregation but greatly reduces transfection. Using HES, it was possible to obtain a “shreddable” shield, preventing rapid aggregation in the blood stream and deshielded in presence of circulating  $\alpha$ -amylase as passive targeting (Noga *et al.*, 2012). As example, a DNA plasmid-expressing luciferase shielded with HES-polyethyleneimine showed low aggregation *in vitro*, and upon exposition to  $\alpha$ -amylase, two-fold higher transfection and increased DNA delivery per cell were found. The system ensured better protection at higher molecular weight HES and a slower degradation by  $\alpha$ -amylase with increased DS of HE groups. Paclitaxel was conjugated to HES to improve its half-life and showed higher *in vivo* accumulation in the tumor, compared to the commercial formulation Taxol® (Yihui *et al.*, 2018).

### 1.2.3 Complexation

Preparation of inclusion complexes by “inserting” guest molecules into preformed “empty” V-type amylose helices was largely studied as an easy encapsulation procedure providing protection of guest compounds. The capacity of starch to bind iodine is used as test for diagnosis of hypo and hyperhidrosis *i.e.* after burns or surgery or in Horner’s syndrome (Bürmann *et al.*, 2015; Sato *et al.*, 1988; Shoji *et al.*, 2003). An iodine solution is applied, allowed to dry and covered with soluble starch powder. Upon hydration, the starch is rapidly swollen and the starch-iodine complex shows a marked dark-blue color change, called the Minor test (Sato *et al.*, 1988). The test was developed as a soluble starch treated with iodine or as pre-treated bands covered with iodine and starch, offering simpler one-step methods (Sato *et al.*, 1988; Shoji *et al.*, 2003).

Cadexomer (Iodosorb®) is a starch cross-linked with epichlorohydrin and containing iodine for wound healing (Khan et Naqvi, 2006). It absorbs exudates and upon hydration, the material swells and releases iodine as an antimicrobial agent.

In conclusion, chemical modifications represent additional tools that can be used to create new starch structures and implicitly envisage new applications, avoiding the use of other materials (as expensive polymers). In the case of physical modifications, the changes resided mainly in alteration of crystalline versus amorphous organization and the systems were stabilized by formation of hydrogens bonding. By introduction of new chemical entities on the starch chains, more intricate structures were generated. The supramolecular organization of such systems involved stabilization where the self-assembly was generated by a combination of electrostatic, Van der Waals and hydrogen bonding. The understanding of structural aspects of such modified materials opened new perspectives allowing the expansion of starch applications.

### 1.3 Enzymatic modifications

**Porous starch** may be obtained as result of amylases action (Zhu *et al.*, 2019b). Selection of specific enzymes for processing allows modulating either starch chains length or size of the pores. Porous starch obtained from *in situ* enzymatic hydrolysis process on starch material has the particularity of keeping the granule shape by the use of  $\alpha$ -amylase (endoamylase, alone or in association with the exoamylase amyloglucosidase), offering good release of the adsorbed content (Zhu *et al.*, 2019b). Porous starch is convenient for delivery of lipophilic drugs or probiotics by incorporation into its porous structure.(Li *et al.*, 2016)

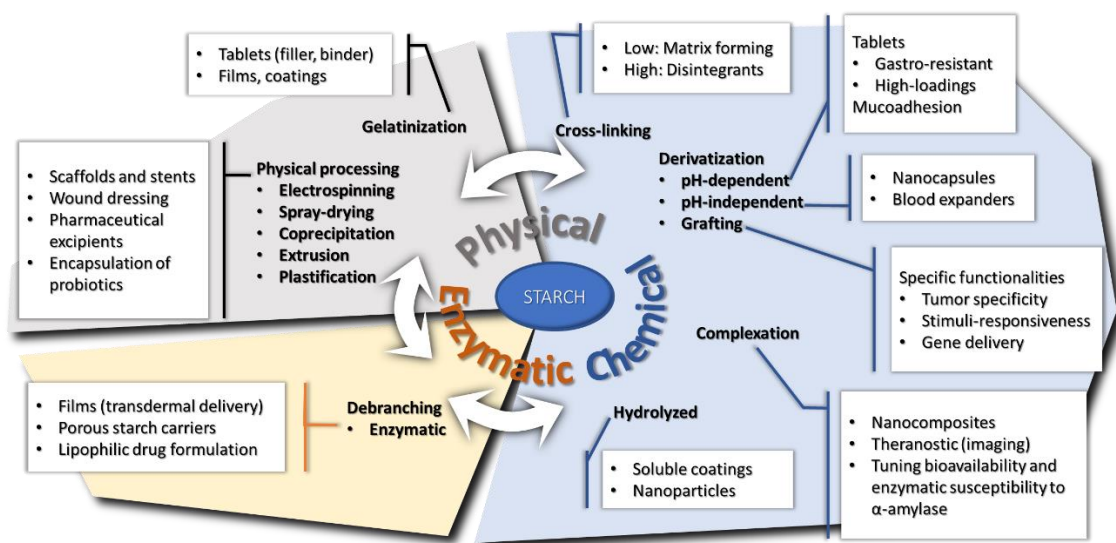
**Debranched starch** is obtained by modification with pullulanase or isoamylase that selectively act on  $\alpha$ -1,6 bonds. With a reduced level of 1,6 linkages, it can hold more water, forming a soft, non-sticky gel that can last longer (Liu *et al.*, 2017). Velox<sup>®</sup>MCS (Henkel Co.) is a crystalline, debranched, amylase-resistant starch and multipurpose excipient. It can be extruded into pellets comprising the active agents and further be formulated to a convenient form *i.e.* tablets, capsules, pessaries, or creams and is suitable for application on vaginal, urogenital or rectal surfaces (Remon *et al.*, 2012).

Cyclodextrins have extremely attractive pharmaceutical applications and they can be obtained from starch using cyclodextrin glucosyl transferase. This enzyme normally produces a mixture of  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -cyclodextrins requiring further separation and purification (Ahmad *et al.*, 2015). Cyclodextrins are supramolecular oligosaccharides having toroid cone structures with a hydrophobic core and hydrophilic exterior. Hydrophobic drug molecules can easily get assembled in their cavity via non-covalent interactions resulting in increased solubility and bioavailability (Moya-Ortega *et al.*, 2012). Due to their low toxicity and

low immunogenicity, cyclodextrins were used for oral, ocular, nasal, rectal and dermal delivery. In nanodelivery they facilitate cellular uptake and reduce cytotoxicity.

#### 1.4 Combined modifications to design 'smart' starches

Previously mentioned modifications may be combined as complementary methods to obtain starches responding to precise functions (**table 1.3 and fig. 1.3**).



**Figure 1.3 Relationship between starch modifications and its pharmaceutical and biomedical applications.**

By association of physical, chemical and/or enzymatic methods, the starch structure could be modulated to respond to required applications. After first step of grafting ionic groups, starch may be further complexed with **magnetic particles** by co-precipitation with ferrous and ferric chloride. A starch-based temperature-responsive magnetic nanohydrogel was reported for theranostic applications (Poorgholy *et al.*, 2017). Starch was modified with itaconic anhydride, complexed with iron(II, III) oxide ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), grafted with the thermosensitive *N*-isopropylacrylamide and loaded with methotrexate. The release was about 15 % at 37 °C and greatly increased to ~80 % at 41 °C. The tumor environment is slightly warmer and such new systems provide new tools for tumor treatment.

The biodegradability and hemostatic properties of porous starch were markedly increased by amination, cross-linking with chitosan or complexation with calcium (Chen *et al.*, 2017a; Chen *et al.*, 2019b; Panwar *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2019a).

Other modifications could add new properties as grafting of antioxidants to reduce risks of oxidative stress or of ellagic acid for a rapid coagulation (Björnses *et al.*, 2011; Filippov *et al.*, 2015). Starch oxidation with periodate or hydrogen peroxide produces dialdehydes, an efficient way to increase its functionality. Complex matrices were obtained by direct cross-linking of gelatin with oxidized starch during the spray-drying co-processing (Dang *et al.*, 2017). This resistant composite was used as microcapsules to control the release of the highly soluble citric acid.

**Table 1.3 Smart starches obtained from dual or multiple modifications**

Starch modification	Main characteristics	Applications	Commercial product/Reference
<b>SMART STARCH OBTAINED FROM COMBINED MODIFICATIONS</b>			
Gelatinization/lyophilization	Porosity, hydrophilicity, biodegradability	Foams for low-soluble drugs	(Wu <i>et al.</i> , 2011)
Chemically modified porous starch	Ionicity and faster coagulation rate	Hemostats	(Björnses <i>et al.</i> , 2011; Chen <i>et al.</i> , 2017a; Chen <i>et al.</i> , 2019b; Filippov <i>et al.</i> , 2015; Panwar <i>et al.</i> , 2019; Zhu <i>et al.</i> , 2019a)
Oxidized starch cross-linked with gelatin	Lower solubility, film-forming	Long lasting oral films	(Dang <i>et al.</i> , 2017)
Co-processed CMS with chitosan	Polyelectrolytic complex	Colon-targeting monolithic tablets Microspheres Nanoparticles	(Assaad <i>et al.</i> , 2012; Assaad <i>et al.</i> , 2011; Calinescu et Mateescu, 2008; Calinescu <i>et al.</i> , 2012) (Blemur <i>et al.</i> , 2016; Zhu <i>et al.</i> , 2019b) (Saboktakin <i>et al.</i> , 2011)
CMS/ quaternary ammonium starch	Cationic, anionic or ampholytic features	Encapsulation of proteins High loading tablets	(Zhang <i>et al.</i> , 2017) (Benyerbah <i>et al.</i> , 2019; Sakeer <i>et al.</i> , 2018)
Hydrolyzed hydroxypropyl starch	Film-forming, solubility	Oral fast-disintegrating films Tablet coating	(Lycoat®)(El-Setouhy et El-Malak, 2010; Pimparade <i>et al.</i> , 2017)
Hydrolyzed and cross-linked starch	Slow degradation by $\alpha$ -amylase	Transient embolizing agent	(Pharmaceut®)(Ziemann <i>et al.</i> , 2019)
<b>Uncommon associations</b>			
Modified starch and clay	Tunable porosity, mucoadhesion	Transmucosal delivery	(Güler <i>et al.</i> , 2015; Wilpiszewska <i>et al.</i> , 2015)
Isotopes/ iron particles	Radiolabeling	Imaging	(Besheer <i>et al.</i> , 2011; Verger <i>et al.</i> , 2016)
3-aminophenylboronic acid	Glucose-responsive	Controlled insulin delivery	(Wen <i>et al.</i> , 2018)
<b>Cross-linked and substituted</b>			
-Potato starch	Soluble	Disintegrant, soluble films	(Vivastar®)(Haque et Sheela, 2015; Zhang <i>et al.</i> , 2018)
-High amylose starch (HAS)	Matrix-forming	Monolithic matrices for sustained release	Contramid®(Labopharm)(Ravenelle et Rahmouni, 2006)

Spray-drying and electrospinning are efficient methods for encapsulation of *Lactobacillus*, ensuring encapsulation efficiency, good protection and stability (Cruz-Benítez *et al.*, 2019; Hernández-López *et al.*, 2018; Lancuški *et al.*, 2017). Wall materials are used for entrapping active agents by spray-drying. They must be able to form emulsion, with acceptable viscosity at high solid content and protect the active content through the process. Octenyl-succinate waxy starch (N-Lok<sup>®</sup>, Ingredion) and HAS-formate could fulfill these requirements, resulting in stable fibers loaded with *Lactobacillus* for probiotic formulation (Hernández-López *et al.*, 2018; Lancuški *et al.*, 2017).

After chemical and physical modifications, starch may be sufficiently amorphous to be solubilized and cast as films. Precise modifications will increase the solubility, giving films for quick release. Due to its hydrophilic nature, starch shows strong adhesive properties, making it an excellent film matrix for buccal delivery.

The hydrophilicity of starch is increased by acid hydrolysis and substitution with hydroxypropyl starch as Lycoat<sup>®</sup>, (Roquette America Inc.) or with carboxymethyl groups and cross-linking of potato starch (sodium starch glycolate, as Vivastar<sup>®</sup>, JRS Pharma). Sodium starch glycolate was used for buccal formulation of metformin or of the poorly soluble drugs *i.e.* fenofibrate (Haque et Sheela, 2015; Zhang *et al.*, 2018). Lycoat<sup>®</sup>RS780 is a pre-gelatinized, hydrolyzed hydroxypropyl pea starch commercialized as tablet coating for fast release forms.

Pediatric-focused, solvent-free oral fast disintegrating films based on Lycoat<sup>®</sup> were formulated with chlorpheniramine maleate, an anti-allergic agent (Pimparade *et al.*, 2017). The films were easy to handle, with disintegration times of 6-11s and subject to *in vivo* taste masking trials. Many starch derivatives have suitable film forming capacity. They gelatinize and form networks, easily forming strong films upon drying. The physical and chemical modifications increased the solubility and decreased retrogradation of starch, forming homogeneous films.

Control of hemorrhagic bleeding may be obtained by adhesion (passive) or by inducing coagulation (active intervention). Some commercial materials offer both cell adhesion and coagulation enhanced capacity but with certain concerns *i.e.* flexibility and degradability (Chen *et al.*, 2017a). Porous starch and CMS, complexed with calcium ions, showed enhanced dual action (passive/active) hemostatic capacity (Panwar *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2019a). The starch microspheres had a better hemostatic activity *in vivo* than commercial hemostatic agents due to active action of calcium ions (Zhu *et al.*, 2019a). The material is



biodegradable and gel-forming, with increased blood-clotting efficiency and fibril formation (Panwar *et al.*, 2019).

The grafting of polymethacrylic acid (PMA) groups on starch increased its pH-sensitivity while maintaining biodegradability (Wilpiszewska *et al.*, 2015). Further addition of calcium montmorillonite was found to increase the mechanical properties of cast films of CMS and they were proposed for drug delivery. For vaginal delivery, the tablets of gelatinized wheat starch-PMA with fast swelling exhibit low adhesion and low water absorption from the mucus. Addition of calcium montmorillonite acting like a nano-filler increased the mucoadhesion by reducing porosity and limiting water absorption (Güler *et al.*, 2015).

New structures and properties can be obtained by co-processing. When chitosan was spray-dried with CMHAS, a new compound was obtained by ionic self-stabilization between the amine and carboxylate groups. This pH-responsive polyelectrolytic complex (PEC) excipient offered good matrix-forming properties. These matrices have been used as carriers for various drugs as anti-inflammatory, enzymes and probiotics for intestinal or colonic delivery (Assaad *et al.*, 2012; Assaad *et al.*, 2011; Calinescu *et al.*, 2008; Calinescu *et al.*, 2012).

Alginate, CMHAS and the enzymes (as diamineoxidase) were dissolved and co-precipitated (under stirring) by ionotropic gelation to obtain enzyme-containing microspheres with 92-95% entrapment yield (Blemur *et al.*, 2016). This process generated compact, less porous structures, reducing the fluid penetration. The enzymatic activity was maintained (70 %) after immersion of the microspheres in simulated gastric fluid (SGF), acidic medium (pH 1.2) and in simulated intestinal fluid (SIF) with pancreatin (65 % over 24 h). In similar conditions, the free enzyme was totally inactivated.

Furosemide has a low solubility, especially in acidic media. To increase residence time and permeability, it was co-processed with CMS by forming a w/o emulsion, precipitated under thorough stirring to form microspheres and dried (Lemieux *et al.*, 2015).

A higher DS (0.1 to 1.5) of CMS increased the swelling, mucosal adhesion and furosemide permeability through epithelial Caco-2 cells. The transepithelial electric resistance, used to investigate mucoadhesive properties, was not greatly changed on gastric cells using CMS of different DS but changed for intestinal cells (Caco-2). This phenomenon may involve the tight junctions enhancing the intestinal absorption. It was more accentuated for CMS microspheres with higher DS (more ionic groups).

Bovine serum albumin (**BSA**) was encapsulated by emulsion with anionic CMS and cationic quaternary ammonium starch (Zhang *et al.*, 2017). The nanocapsules with CMS of higher DS showed better encapsulation but those of low DS were more compact and had better colon-targeting profiles. The CMS/CHI PEC microparticles had better entrapment efficiency of BSA than CHI alone, possibly due to a higher solubility of CHI during the processing as PEC and also due to interaction of the CM groups with CHI and the protein (Quadrado et Fajardo, 2018). A controlled release of mesalamine was obtained from nanoparticles based on CMS-CHI mixture, the system being modulated by an ion-exchange mechanism (Saboktakin *et al.*, 2011).

#### 1.4.1 Theranostics

Lately, the concept of dual diagnostic/ therapeutic agents is emerging as theranostic systems. Diagnostic is achieved by using ligands with affinity for receptors that are common or specific to the target (*i.e.* folate receptors in tumors) and may be monitored with a marker (*i.e.* isotopes), followed by therapeutic treatment with bioactive agents (Sun *et al.*, 2018). Starch is easily functionalized with markers as Gadolinium-HES for magnetic resonance imaging (Besheer *et al.*, 2011). To be used as a carrier, starch was functionalized to increase tumor-targeted specificity and transport of therapeutic agents, respectively. For instance, to treat hepatic carcinoma, the starch microparticles were radio-labeled before intra-arterial injection to irradiate liver tumors (Verger *et al.*, 2016). *In vivo*, 95 % of radioactivity was accumulated in the liver, mostly in the tumoral part of affected liver. Such starch-based carriers are promising platforms for the selective internal radiation therapy in the frame of various antitumor treatments. Differently charged starch hydrogels were compared for their protein absorption to evaluate their behavior in the formation of a protein layer in plasma (Wang *et al.*, 2015). The anionic and zwitterionic starch had low cell adhesion and better hydration, being good candidate as carriers. Indeed, zwitterionic sulfobetaine-starch showed lower macrophage activation and was more effective *in vivo* to prolong circulating time than micelles without sulfobetaine (Ye *et al.*, 2016).

#### 1.4.2 Stimuli-responsive systems

**Stimuli-responsive systems** are very useful for multiple applications. Modified starch was also used as carrier for controlled release of insulin (Wen *et al.*, 2018). A glucose-responsive insulin release was achieved by grafting 3-aminophenylboronic acid on starch as glucose-responsive groups. By specific binding to 3-aminophenylboronic acid, glucose induces starch expansion, releasing the insulin. The self-assembled zwitterionic starch-based micelles release of 22 % insulin in 48 h in glucose-free media. The

release was increased to 67 % in glucose solution. Such system could control the plasma glucose level in diabetes-induced rats for 14-22 h with different oral dosages, without glycemic fluctuation. As a stimulus-responsive system for chemotherapy, a starch microcapsule carrier, functionalized with folic acid and cysteine, could increase tumor-targeted release of a model drug, coumarin 6 (Sun *et al.*, 2018). Folic acid, as ligand for the folate receptors, serves as tumor marker. Cysteine, forming di-sulfide bonds by ultrasonication, was used as a reductive-responsive cross-linking agent to bind the drug. Glutathione, with higher concentrations in tumoral environments, may break disulfide bonds by thiol-disulfide exchange (Blair *et al.*, 1997). These microcapsules showed high selectivity to human cervical cancer cells and a triggered release *in vitro* in presence of glutathione, successfully reaching the cytoplasm of cancer cells (Liu *et al.*, 2015).

A thermo-responsive carrier was designed by starch association with PEG and polymethacrylate derivatives; it was loaded with doxorubicin and could form micelles by self-assembly in tumor environment at pH 7.4 (Wang *et al.*, 2019). Adhesive vaginal tablets made of various modified starches could extend progesterone release with better *in vivo* performances than commercial CIDR<sup>®</sup> dosage, a progesterone gelatine capsule insert for veterinary use from EAZI-BREED<sup>™</sup>, Pfizer, Turkey (Gök *et al.*, 2016). Gelatinized and cross-linked starches (maize, rice, wheat and potato) resisted more than 24 h. At higher swelling, the adhesion was lower. The progesterone blood level for the 75 mg wheat starch-based dosage was similar to the 330 mg dosage CIDR<sup>®</sup>, but with a longer release, over 16 days. Mucoadhesion was higher for starch modified with thioglycolic acid, forming thioesters and thioethers, than with cysteine, having less-polarizable S-H groups (Gök *et al.*, 2017).

## 1.5 Conclusions and perspectives

Accumulated knowledge on starch structural aspects allowed the expansion of its application fields. Decades ago, starch served in tableting as disintegrant or binder but more recently its uses range from drug targeting to biodevices and design of theranostic agents. Various physical and chemical modifications represent keys in modulation of self-assembling phenomena and allow the design of complex structures (*i.e.* micelles, nanoparticles, fibers) used for gene delivery, injectable anticancer forms, transdermal products or wound dressing. New applications emerged, *i.e.* degradable stents, agents for non-permanent embolization, cell-permeation enhancers, prebiotics. Due to its high versatility, several forms of starch can be called multifunctional smart excipients. The numerous hydroxyl groups, the complex structure of amylopectin, the helix-forming properties of amylose and the enzymatic susceptibility as combined

features are making starch a unique and highly valuable material for pharmaceutical and biomedical applications.

Considering the huge variability of the starch types, sources and derivatives, there is a continuous need to better understand the impact of their structure on the expected applications. None of other biopolymers combine as much features as starch. It is biodegradable and majority of the modifications are green chemistry in aqueous media. In a near future, usage of modified starch for pharmaceutical and biomedical applications is very likely to increase, owing to its versatility, biodegradability, biocompatibility, low-cost and availability. Many reports on pharmaceutical and biomedical applications limited their study to commercial food-grade starch. Reglementary acceptance of more starch derivatives and new starch sources would be a great opportunity to increase the number of starch products integrated on the market for pharmaceutical and biomedical applications.

**Acknowledgments.** This work was supported by Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, grant number 06919) and by the Courtois Foundation, Canada.

## CHAPITRE 2

### LES FILMS À BASE D'AMIDON MODIFIÉ

#### 2.1 Structure, propriétés et caractéristiques de l'amidon

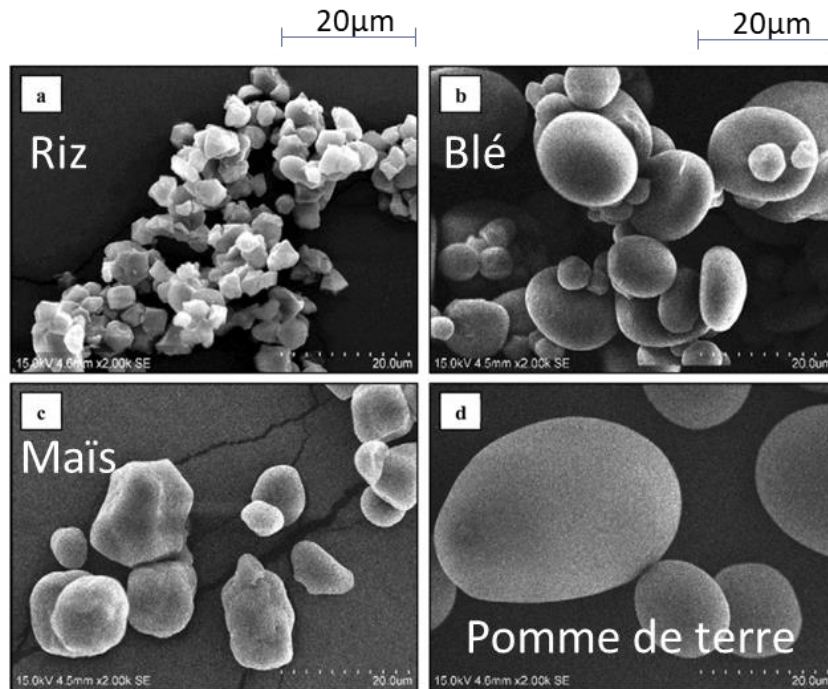
Chez les végétaux, l'amidon est assemblé dans les organes et les tissus à partir de fragments glucosidiques, particulièrement dans les amyloplast, comme réserve d'énergie. C'est un polymère de glucose à très haute masse moléculaire. Il se distingue par ses liens glucosidiques  $\alpha$ -1,4 qui forment un angle entre les unités de glucose et permet d'adopter une forme d'hélice. Il se compose d'amylose (non-branché) et d'amylopectine (fortement branchée). L'amylose s'organise en hélice simple ayant une cavité au centre et peut être long de plus d'un millier d'unités. La masse moléculaire de l'amylopectine est très élevée et atteint des centaines de milliers d'unités. Les branches terminales de l'amylopectine sont courtes (environ 30 unités) mais très nombreuses et s'organisent en hélices simples et double-hélices compactes. Les amidons diffèrent remarquablement selon les sources. Les particules d'amidon de riz sont petites et polygonales tandis que celles de pomme de terre sont grosses et rondes (**fig. 2.1**). Différents amidons sont comparés au **tableau 2.1** mais beaucoup d'autres sources sont étudiées.

Dans les plantes, l'amidon a une forme de granule car il est assemblé par des enzymes qui travaillent en surface. Entre autres, l'amidon synthase (une glycosyltransférase ayant plusieurs isoformes) transfère des unités ADP-glucose vers l'extrémité non-réductrice de l'amidon pour former des liens  $\alpha$ -1,4 (Jeon *et al.*, 2010). Ensuite, des enzymes de branchement (amidon synthases) et de débranchement (isoamylases) vont former ou cliver des liens  $\alpha$ -1,6 en surface, générant les sections amorphes des granules d'amidon.

Le ratio amylose:amylopectine varie donc avec les sources d'amidon. Dans la granule, les double-hélices sont assemblées en lamelles cristallines concentriques, intercalées avec des sections amorphes (les ramifications). L'amylose, très long, se retrouve surtout dans les sections amorphes mais peut aussi former des hélices simples et participer à l'organisation des sections cristallines. L'organisation des hélices dans les granules dépend du type d'amidon (**fig. 2.2**).

Les amidons des grains de céréale, petits, ont généralement une cristallinité de type A (orthorhombique). Les amidons de tubercules (*i.e.* de pomme de terre) sont gros et arrondis avec une cristallinité de type B

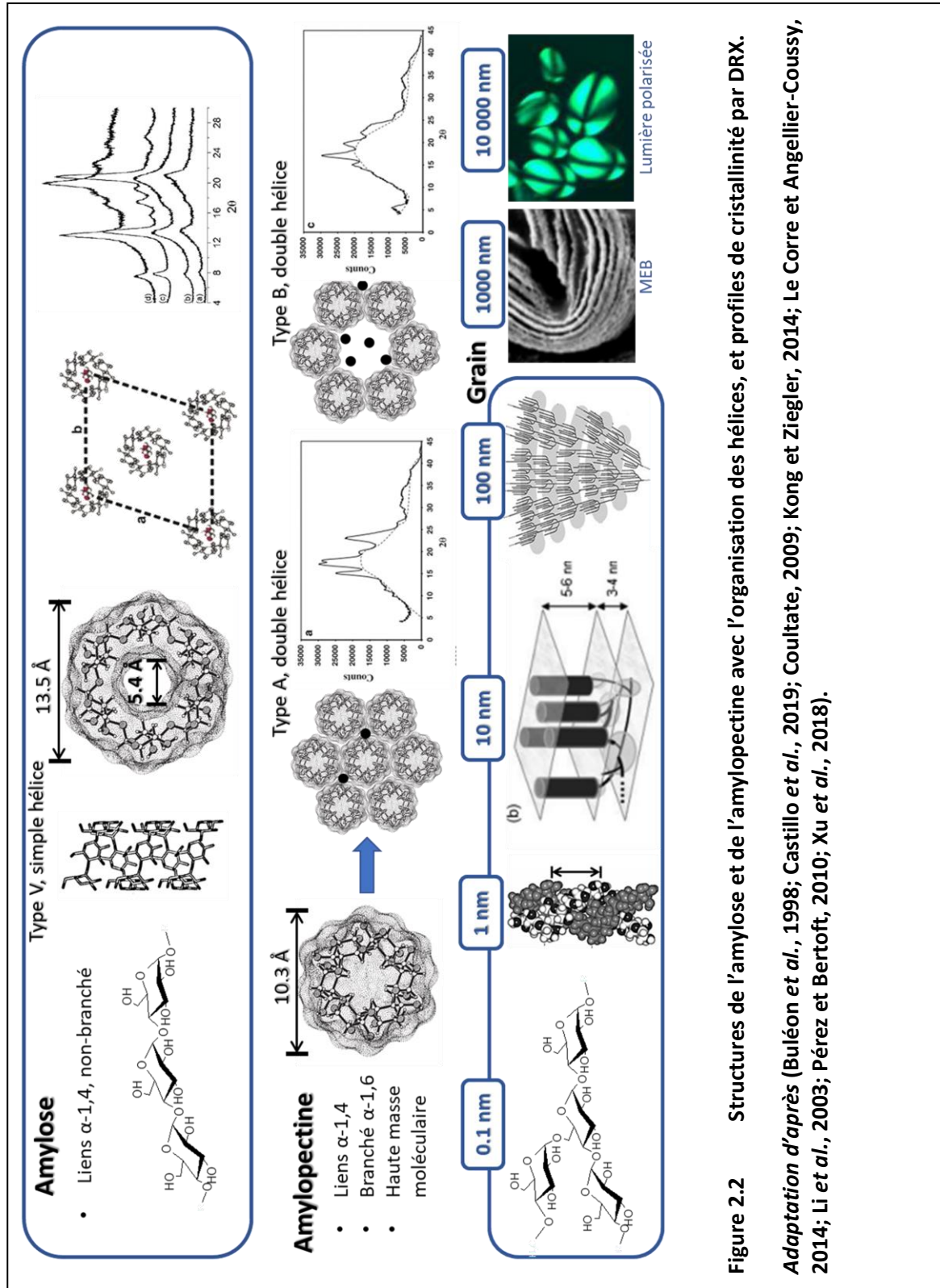
(hexagonale). Le type B possède des canaux vides entre les hélices où peuvent se nicher des molécules d'eau. Des molécules d'eau se retrouvent aussi dans et entre les hélices.



**Figure 2.1** Micrographie de différents amidons. Adaptation d'après (Choy *et al.*, 2016).

**Tableau 2.1** Les propriétés de quelques amidons. AP : amylopectine, AM : amylose, C : cristallinité. (Alcázar Alay et Meireles, 2015; Bhat, 2015; Cheetham et Tao, 1998; Chen *et al.*, 2017b; Martens *et al.*, 2018; Ouyang *et al.*, 2021; Singh *et al.*, 2016; Stawski, 2008)

Types	Source	Type AP	%AM (%)	%C (%)	Gonflement (%)	Gélatinisation (°C)
Cireux	Riz	A	<1	38	45-90	60-78
Céréale	Riz	A	16-29	33	23-30	63-92
	Blé	A	18-30	28	18-27	55-84
	Maïs	A	19-28	19	22	69-78
ARA	Maïs	B, C	>70	17	6	67-n.d.
Tubercule	Pomme de terre	B	18-26 30-41	46	1159	57-69

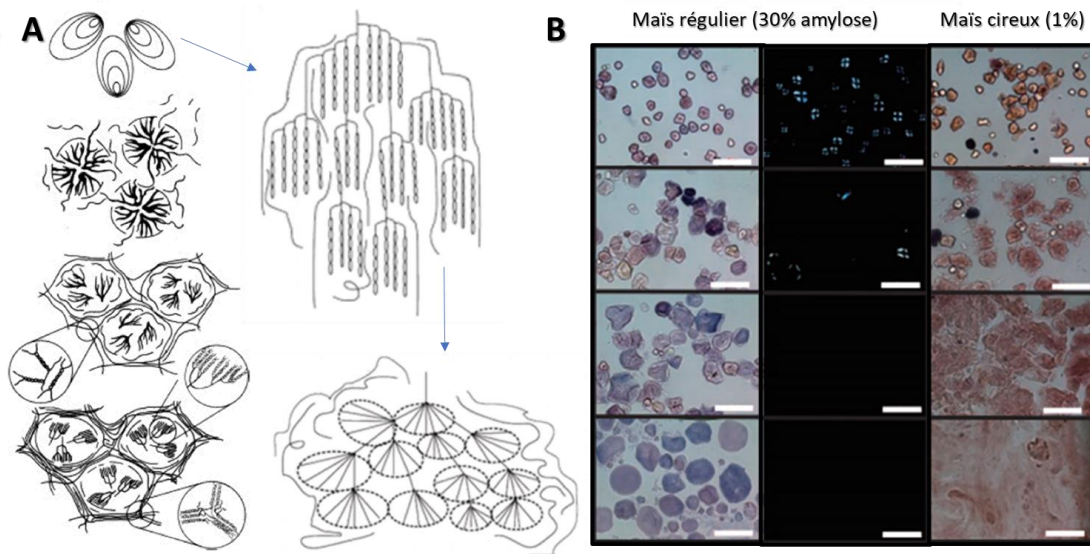


**Figure 2.2** Structures de l'amylose et de l'amylopectine avec l'organisation des hélices, et profils de cristallinité par DRX. *Adaptation d'après* (Buléon *et al.*, 1998; Castillo *et al.*, 2019; Coultate, 2009; Kong et Ziegler, 2014; Le Corre et Angellier-Coussy, 2014; Li *et al.*, 2003; Pérez et Bertoft, 2010; Xu *et al.*, 2018).

### 2.1.1 Gélatinisation

La gélatinisation est la solubilisation du polymère par destruction des ponts hydrogène intermoléculaires (*i.e.* chauffage) tandis que la gélation est la formation d'un gel par création des ponts hydrogène intra- et intermoléculaires (refroidissement). Les chaînes s'organiseront en réseau par refroidissement, formant un gel (gélation).

L'amidon natif n'est pas soluble à froid et requière du chauffage pour briser les ponts hydrogène. Les ponts hydrogène sont nombreux, ils se retrouvent entre les unités glucosidiques voisines, entre les tours d'hélices et entre les hélices, rendant l'amidon peu soluble en eau froide. La majorité des amidons se solubiliseront par un traitement hydrothermique léger. Lorsque l'amidon se solubilise, il forme une solution visqueuse (gélatinisation) dû aux chaînes polymériques qui ont des très grandes masses moléculaires. Avec suffisamment d'énergie, elles s'hydratent et occupent beaucoup d'espace (**fig. 2.4**).

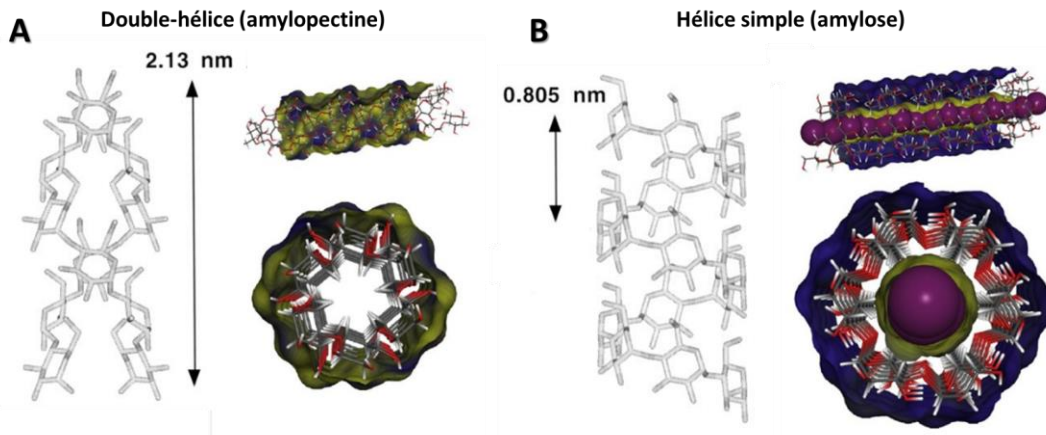


**Figure 2.3 Aspects de la gélatinisation. A) Schéma de la gélatinisation des granules d'amidon. (Goesaert *et al.*, 2005). B) Suivi de la gélatinisation des granules par microscopie en présence d'iode. En bleu : amidon régulier; en rouge : amidon cireux. En noir : microscopie à lumière polarisée (Fukami *et al.*, 2010).**

Pour l'amylopectine, la dissociation et réassociation des doubles hélices est rapide car les chaînes terminales sont courtes (degré de polymérisation,  $DP \sim 30$ ) et positionnées adéquatement sur les chaînes secondaires (les chaînes secondaires sont celles reliées à la chaîne principale). Pour l'amylose ( $DP 100 - 1000$ ), la formation d'une double hélice est moins probable. La solubilité de l'amylopectine est donc différente de celle de l'amylose. Dans la double hélice, autant des hydroxyles que des hydrogènes sont



orientés vers l'extérieur et la surface est hydrophile. Au contraire, dans la simple hélice d'amylose, des hydrogènes pointent à l'intérieur et des hydroxyles à l'extérieur (**fig. 2.4**). Ayant un extérieur hydrophile, l'amylose favorise la forme hélice en solution. Les hélices de l'amylopectine, plus ou moins hydrophiles en surface, sont moins gagnantes énergétiquement à rester sous forme hélice : elles gélifient facilement.



**Figure 2.4** Sections hydrophiles et hydrophobes de la double-hélice et l'hélice simple. Jaune : hydrophobe, bleu : hydrophile, A : double-hélice et B : hélice simple. *Adaptation d'après (Buléon et al., 1998; Mottiar et Altosaar, 2011).*

### 2.1.2 Rétrogradation

Tout comme la gélification, la rétrogradation se fait en plusieurs étapes (**fig. 2.5**). Lorsque la solution visqueuse formée se refroidit après le chauffage, l'amidon se réorganise pour adopter une structure plus stable. D'abord, les doubles-hélices vont se former dans des orientations quelconques. Ce processus est rapide (30 minutes à quelques heures). Ensuite les doubles-hélices vont s'aligner et les cristaux vont augmenter en grandeur et en organisation. Cela implique la rotation des chaînes principales dans des positions plus stables et peut durer des jours voire des mois.

L'amylose, ayant un degré de polymérisation entre 100 et 1000 ou plus, rétrograde moins et plus lentement que l'amylopectine qui a des ramifications à chaînes courtes. Également, dans l'amylopectine, les chaînes sont à proximité les unes des autres et sont orientées par les chaînes principales qui forcent l'alignement. Comme l'amylopectine rétrograde plus rapidement, il est probable que l'amylose s'organise ensuite autour des structures d'amylopectine.

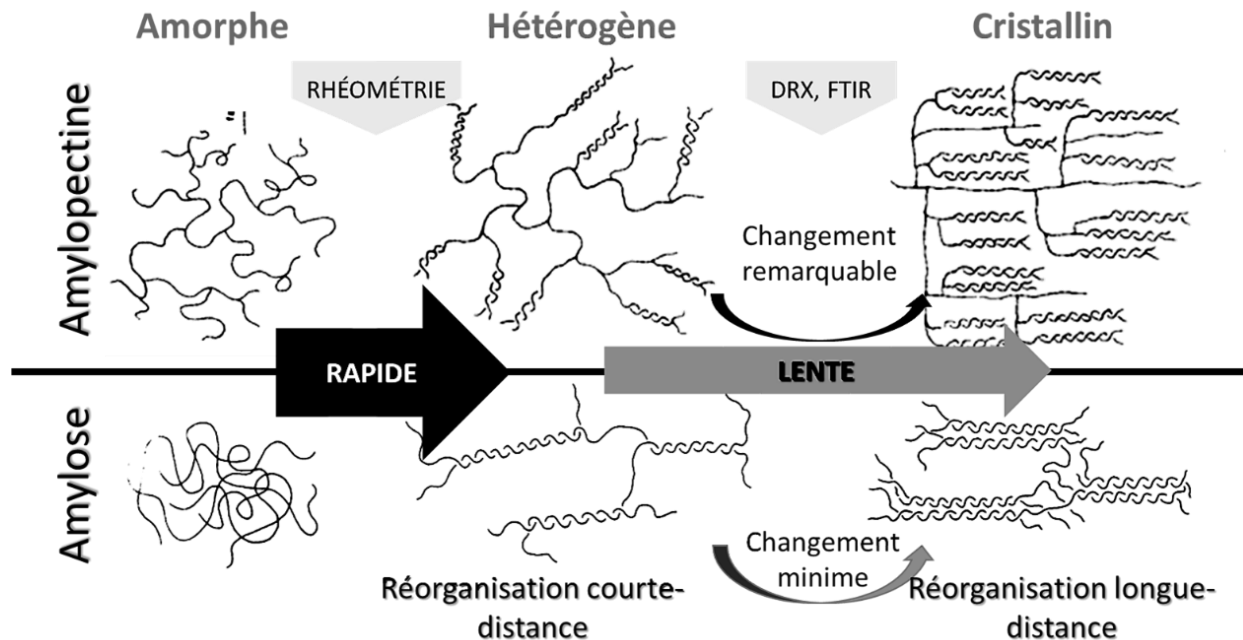


Figure 2.5 Rétrogradation de l'amylopectine comparée à l'amylose. Adaptation d'après (Goodfellow et Wilson, 1990).

## Biodégradabilité

L'amidon est susceptible à la dégradation enzymatique par l' $\alpha$ -amylase, ce qui permet aux êtres vivants de le métaboliser. Chez l'humain, l' $\alpha$ -amylase se retrouve dans la salive, le sang et l'intestin. Les amidons peuvent donc être classés selon leur susceptibilité à la dégradation par l' $\alpha$ -amylase. L'amidon riche en amylose (**ARA**, en anglais HAS : *high amylose starch*) est moins affecté que les amidons riches en amylopectine. L'amidon sous forme de granule est aussi moins susceptible à l' $\alpha$ -amylase que l'amidon gélatinisé. Les amylases se retrouvent dans la nature, dans les plantes et peuvent être exprimées par certains micro-organismes. L'amidon est donc facilement décomposable et compostable. Associé avec l'argile, la biodégradation atteint 20 semaines (Méité *et al.*, 2021) et peut servir à contrôler la libération des engrais (Sarkar *et al.*, 2021).

### 2.1.3 Caractérisation des granules d'amidon

#### 2.1.3.1 Diffraction des rayons X (DRX)

En DRX, l'énergie du rayon incident ne varie pas; la distance entre les plans de symétrie peut donc être calculée. Pour l'arrangement type A (orthorhombique), les pics caractéristiques sont 15, 17, 17.8 et 23° (2 $\theta$ ). L'arrangement type B (hexagonal) montre des pics à 5, 17, 19.5, 22 et 24° (2 $\theta$ ). Il existe aussi des

cristaux d'amylose qui donnent lieu à des motifs type V ayant des pics à 7.8, 13.4 et 20.8° (2 $\theta$ ). La cristallinité relative est calculée avec le ratio de l'aire des pics divisé par l'aire sous la ligne de base. En mesurant le changement de cristallinité entre le début et la fin de l'entreposage d'un produit d'amidon, il est possible d'estimer la rétrogradation.

#### 2.1.3.2 La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les polysaccharides sont riches en liaisons C-O et C-H variées, ce qui rend l'identification difficile à cause du chevauchement des bandes. Dans le grain d'amidon, les unités glucosidiques n'ont pas exactement le même environnement les unes face aux autres. Les énergies des modes vibrationnels atomiques ne sont pas identiques et élargissent les bandes à l'infrarouge. Il a été remarqué qu'une section du spectre de l'amidon reflétait l'organisation de sa structure. Les bandes à 1044, 1022 et 995 cm<sup>-1</sup> sont influencées par l'organisation des chaînes et permettent de déduire des changements structuraux.

#### 2.1.3.3 Autres techniques

La thermogravimétrie mesure le changement de poids d'un échantillon en fonction de la température. Deux phases principales de changement de poids sont observables : la déshydratation vers 100 °C et la décomposition après 300 °C. Lors de la décomposition, plusieurs réactions peuvent avoir lieu, par exemple la dépolymérisation, la condensation, l'élimination d'hydroxyles et la formation de carbonyle (Lemos *et al.*, 2019). Des liens éthers vont se former et de l'éthylène sera libéré (Zhang *et al.*, 2002). Après 400 °C, le résidu aura une composition semblable à une résine.

Pour analyser les résultats plus facilement, la dérivée de la courbe est calculée et représente la vitesse de perte de masse. Le paramètre utilisé pour comparer les analyses thermogravimétriques de l'amidon est surtout la température du pic le plus intense de la dérivée (DTGmax). Les DTGmax de quelques amidons modifiés sont présentées au **tableau 2.2**.

La DTGmax dépend des paramètres de la méthode. L'atmosphère (inerte ou oxydante) change la masse finale du résidu (**fig. 2.6A**). La vitesse d'augmentation de la température a un impact plus considérable; l'augmentation du chauffage de 5 °C/min à 10, 15 et 20 °C/min a augmenté les valeurs de DTGmax de plus de 15 °C (**fig. 2.6B**) et les températures à 5% de perte de masse (T5%) de plus de 200 °C (Liu *et al.*, 2019b). La DTGmax varie aussi avec le type d'amidon, la cristallinité, le pourcentage d'amylose, le type de fonctionnalisation (**fig. 2.6C**) et un peu selon l'hydratation (**fig. 2.6D**).

**Tableau 2.2 Analyse thermogravimétrique de quelques amidons natifs et modifiés**

Amidon	Natif DTGmax (°C)	Modifié DTGmax (°C)	Références
<b>ARA (maïs)</b>	262 300 324 327	286 CMARA 285 CMARA 291 AECMARA 287 TMACMARA	(Massicotte <i>et al.</i> , 2008) (Lemieux <i>et al.</i> , 2010) (Sakeer <i>et al.</i> , 2018) (Benyerbah <i>et al.</i> , 2019)
<b>Amidon de maïs</b>	309 305	294 Hydrolysé 285-300 Oxydé	(Aggarwal et Dollimore, 1998) (Soliman <i>et al.</i> , 1997)
<b>Starch1500®</b>	300 nd	nd 290 Hydraté	(Rajabnezhad <i>et al.</i> , 2020). (Raxit <i>et al.</i> )
<b>Cireux Normal</b>	328 322	392 Propanoate 395	(Zhu <i>et al.</i> , 2017)
<b>Gelose®50 (G50)</b>	315	397	
<b>Gelose®80 (G80)</b>	312	395	
<b>Amidon de pomme de terre</b>	310	325 Acétate 317 Maléate 316 Octanoate	(Morán <i>et al.</i> , 2012)
<b>Amidon de riz cireux</b>	320	nd	(Chen <i>et al.</i> , 2019a).

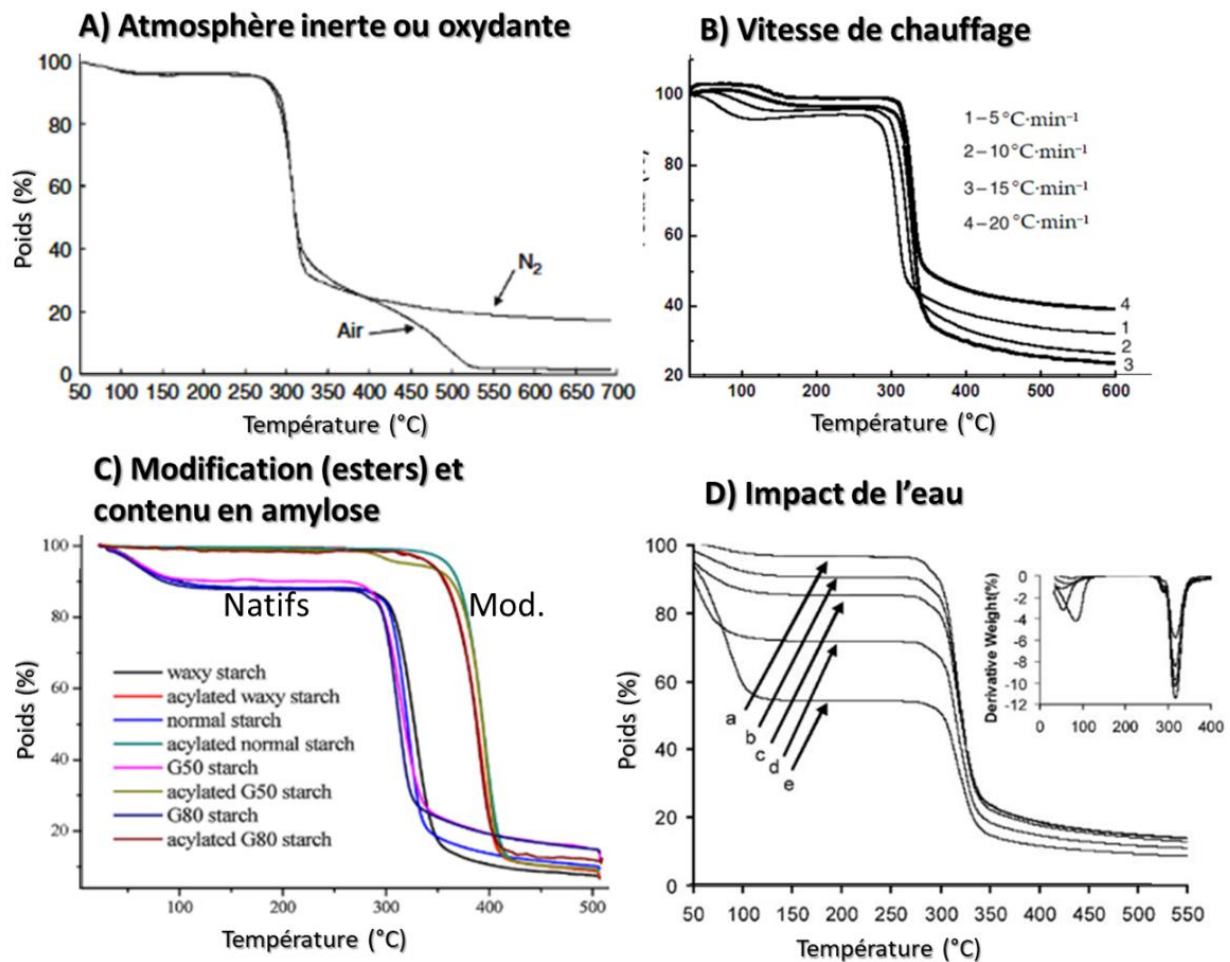
La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) mesure l'énergie nécessaire pour changer la température (l'endotherme) d'une cupule contenant l'échantillon. Cette technique permet d'obtenir la température de gélatinisation de l'amidon en ajoutant un minimum d'eau. La cupule est fermée hermétiquement et stabilisée pendant au moins 12 h. Ensuite, l'analyse DSC est conduite entre 40 et 120 °C. La DSC sur des poudres sèches est utilisée pour trouver la température de transition vitreuse en utilisant une cupule perforée (Khan *et al.*, 2019).

Le test d'iode (**fig. 2.7**) mesure la capacité de l'amidon à former des hélices simples incorporant l'iode. En relation avec la longueur des chaînes, les complexes d'iode formés par l'amylose ont une couleur bleu foncé et ceux de l'amylopectine sont rouges. Le ratio amylose:amylopectine peut donc être estimé à l'aide d'une courbe standard.

La viscosité et la température de gélatinisation sont des paramètres qui décrivent bien les amidons. Ils peuvent être estimés simultanément avec un viscographe de style Brabender, comme le *Rapid Visco Analyzer* (Li *et al.*, 2020). L'étude de la formation des pâtes d'amidon (*pasting properties*) mesure la viscosité tout au long du chauffage et du refroidissement. Cette méthode permet de voir rapidement la

différence entre la gélatinisation hydrothermique des amidons réguliers et des ARA (fig. 2.8). Ce test montre que l'ARA ne gélatinise pas du tout dans la gamme des températures habituelles.

En spectroscopie de résonance magnétique (RMN), le spectre du proton ( $^1\text{H}$ ) est obtenu après hydrolyse de l'amidon. Le spectre du carbone peut être mesuré à l'état solide, sans traitement additionnel. Les carbones  $\text{C}_1$  et  $\text{C}_6$  ont une bonne résolution et peuvent servir à calculer le degré de substitution (Ferro *et al.*, 2017).



**Figure 2.6** Les différents facteurs affectant les courbes TGA de l'amidon. A) L'utilisation d'une atmosphère inerte ( $\text{N}_2$ ) ne permet pas la dégradation complète des carbones organiques (Liu *et al.*, 2014). B) L'augmentation de la vitesse de chauffage donne des valeurs différentes (Liu *et al.*, 2019b). C) L'ajout des fonctions acétyle a augmenté la stabilité des amidons (Zhu *et al.*, 2017). D) Le contenu initial en eau ne déplace pas la température du DTGmax mais change l'allure de la courbe (Liu *et al.*, 2013). Gelose®50 (G50) et Gelose®80 (G80) sont des amidons riches en amylose.

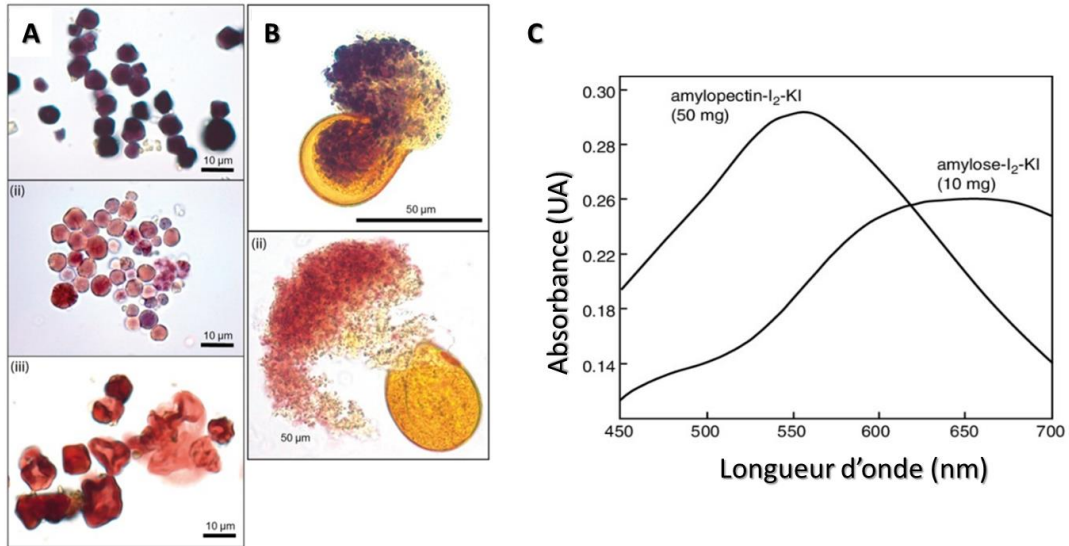


Figure 2.7 Coloration de l'iode en fonction de la teneur en amylose. A) Les granules d'amidon riches en amylose se colorent en violet et celles riches en amylopectine en rouge. B) Micrographie représentant des granules d'amidon dans des grains de pollen. C) Courbes d'absorbance en visible de l'iode complexé avec l'amylose ou l'amylopectine (Hostettler *et al.*, 2011; Hunt *et al.*, 2013).

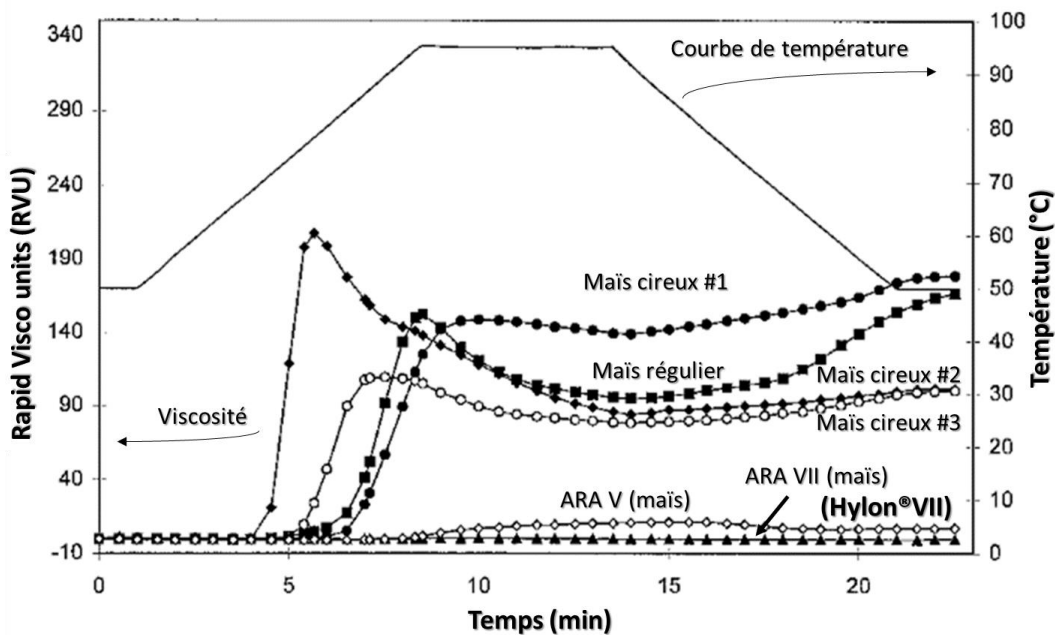


Figure 2.8 Viscosité des différents amidons pendant et après chauffage. La viscosité est exprimée en *Rapid Visco units*. Le RVU est une mesure de la force rotationnelle appliquée pour mélanger la 'pâte'. Il se rapproche de la centipoise mais ne peut pas être comparé directement, à cause de l'impact de la non-linéarité des fluides non-Newtoniens. Adaptation d'après (Jane *et al.*, 1999).

#### 2.1.4 L'amidon riche en amylose (ARA)

L'ARA (en anglais : *high amylose starch*, HAS) est classé comme un amidon résistant. L'amylose, en plus grand ratio que l'amylopectine, participerait à la stabilisation de la granule, formant des points d'encrage, passant d'une lamelle cristalline à une autre.

Les matériaux à base d'ARA sont plus stables (rétrogradent peu) et plus résistants grâce aux longues chaînes et aux hydroxyles formant des ponts hydrogène. Comme l'amylose forme des liens entre les sections du grain, l'ARA gélatinise difficilement. Ce phénomène est visible sur la courbe du viscosimètre (**fig. 2.8**) où l'ARA ne devient même pas un peu visqueux pendant la durée du test.

#### 2.2 Les modifications de l'amidon

Différents amidons comme additifs alimentaires sont énumérés au **tableau 2.3**. Au niveau de la FDA (*Food and Drug Administration*), les amidons modifiés qui répondent à la norme générale de la Pharmacopée des États-Unis (*United States Pharmacopeia*, **USP**) sont considérés comme généralement sans danger (*Generally recognized as safe*, **GRAS**). Les différentes façons de classer les amidons modifiés sont présentées au **tableau 2.4**. Les modifications de l'amidon peuvent avoir plusieurs effets *i.e.* limiter la rétrogradation, augmenter la solubilité ou diminuer la température de gélatinisation.

**Tableau 2.3 Réglementation des amidons modifiés comme additifs alimentaires.**

Nom anglais	Commission Européenne	FDA ( <i>Food and Drug Administration</i> )
<i>Oxidised starch</i>	E 1404	GRAS ( <i>generally recognized as safe</i> ).  Appellation générale : ' <i>food starch-modified</i> '  Conforme à la pharmacopée (USP)
<i>Monostarch phosphate</i>	E 1410	
<i>Distarch phosphate</i> (réticulé)*	E 1412	
<i>Phosphated distarch phosphate</i> *	E 1413	
<i>Acetylated distarch phosphate</i> *	E 1414	
<i>Acetylated starch</i>	E 1420	
<i>Acetylated distarch adipate</i>	E 1422	
<i>Hydroxypropyl starch</i>	E 1440	
<i>Hydroxypropyl distarch phosphate</i>	E 1442	
<i>Starch sodium octenyl succinate</i>	E 1450	
<i>Acetylated oxidised starch</i>	E 1451	
<i>Starch aluminum octenyl succinate</i>	E 1452	

\*distarch phosphate est un lien Amidon-PO<sub>2</sub>-Amidon obtenu par estérification/réticulation de l'amidon avec le trimetaphosphate de sodium.

Les amidons avec des fonctions polaires et alkyles (l'octényle succinate d'amidon 'OSA') ou des fonctions non-ioniques (*i.e.* acétylé) sont utilisés pour les émulsions et répandus en alimentation. Ces fonctions ne forment pas (ou peu) de ponts hydrogène avec les hydroxyles de l'amidon. Leur présence crée de l'encombrement stérique, empêchant la réorganisation des cristaux (rétrogradation), ce qui permet aux soupes, yogourt, sauces et autres de ne pas figer après refroidissement.

Les modifications peuvent être classées comme physiques, chimiques ou enzymatiques. Les modifications enzymatiques sont essentiellement la dépolymérisation donnant des granules poreuses (procédé contrôlé) ou des 'dextrines' avec un contenu élevé en lien  $\alpha$ -1,6 (voir des exemples d'applications au chapitre 1).

**Tableau 2.4 Diverses classifications des modifications des amidons**

<b>Types de modifications</b>	<b>En alimentation</b> (Krempel <i>et al.</i> , 2019; Wurzburg, 2006)	<b>Réglementation européenne</b> (Taggart et Mitchell, 2009)
Physiques <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gélatinisation</li> <li>• Broyage</li> <li>• Extrusion</li> <li>• Thermo-compression</li> </ul> Chimiques <ul style="list-style-type: none"> <li>• Substitution</li> </ul> Enzymatiques <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dépolymérisation</li> </ul>	Amidons convertis <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acidification</li> <li>• Oxydation</li> <li>• Dextrinisation</li> </ul> Amidons stabilisés <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acétate</li> <li>• Monophosphate</li> <li>• Succinate</li> <li>• Hydroxypropyl</li> </ul> Amidons réticulés	Modification de l'amidon comme ingrédient <ul style="list-style-type: none"> <li>• Physiques</li> <li>• Enzymatiques</li> <li>• Dextrinisation</li> <li>• Traité à l'acide</li> <li>• Alcalin</li> <li>• Blanchi (<i>bleached</i>)</li> </ul> Modification de l'amidon comme additif <ul style="list-style-type: none"> <li>• Oxydé</li> <li>• Phosphaté</li> <li>• Acétylé</li> <li>• Hydroxypropylé</li> <li>• OSA</li> </ul>

\*OSA : octénylsuccinate d'amidon

### 2.2.1 Les traitements physiques

Les traitements physiques utilisés sont surtout le broyage, l'extrusion, le séchage par atomisation (*spray-drying*) et les traitements hydrothermiques. Le broyage (*i.e.* meules, rouleaux, moulin à billes) et l'extrusion peuvent être effectués à sec, en présence d'un faible taux d'humidité ou même des réactifs. Principalement, les granules seront écrasées, créant des cassures importantes dans les cristaux, ce qui désorganisera partiellement la structure (*i.e.* Starch 1500®). Cela permet une meilleure hydratation de la granule, diminuant la température de gélatinisation.



Le traitement hydrothermal désorganise les cristaux d'amylopectine et permet d'obtenir des amidons prégélatinisés, faciles à solubiliser. Ce type de matériaux est utilisé en alimentation (*i.e.* épaississant) et dans l'industrie pharmaceutique comme excipient pour les comprimés.

### 2.2.2 Les modifications chimiques

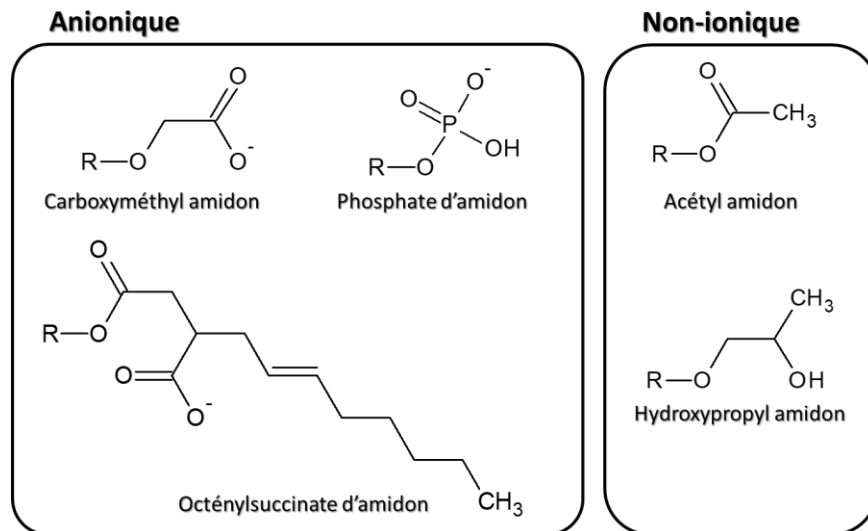
Les fonctions ester (CO-O-C) se trouvent dans l'acétate d'amidon (un additif alimentaire) et servent à abaisser la température de gélatinisation. Les éthers (C-O-C) résultent de la réaction avec un époxyde (ouverture de cycle) ou avec un dérivé halogéné (substitution nucléophile). C'est le cas de l'hydroxypropyl amidon, un additif alimentaire. Les nouvelles propriétés de l'amidon modifié vont varier si le groupe ajouté est aliphatique ou ionique.

Les modifications anioniques sont entre autres les phosphates et les carboxylates (fig. 2.9). Les amidons phosphatés (phosphate de monoamidon) sont des additifs alimentaires. Ils ont une bonne solubilité due au caractère ionique du phosphate. Ils sont obtenus entre autres par phosphorylation avec un agent phosphorylant monofonctionnel comme le tripolyphosphate de sodium.

Les phosphates de di-amidon (réticulés) sont obtenus à l'aide de l'agent phosphorylant polyfonctionnel : trimétaphosphate de sodium (STMP). Lors de la réaction avec STMP, le phosphate de monoamidon est généré à pH 5.0-6.5, tandis que le phosphate de di-amidon s'obtient à pH 9.5 ou plus (Shukri et Shi, 2017). Les réticulations créent des défauts lors de la cristallisation, empêchant la rétrogradation. Contrairement à l'épichlorhydrine qui forme un lien non ionique, un pont phosphate entre deux chaînes d'amidon apporte un nouveau caractère ionique qui peut influencer la solubilité. Les phosphates d'amidon comme Purity®D restent solubles à pH acide, ce qui les rend intéressants pour le domaine alimentaire (sauce, yaourt). Les amidons cationiques sont surtout obtenus par modification avec des fonctions amines.

Les amidons portant les deux charges, anioniques et cationiques, sont nommés de différentes façons dans la littérature : amphotériques, ampholytiques, amphiprotiques et parfois zwitterioniques. Ampho et amphi ont la même utilisation qui signifie 'les deux'. Amphiphile signifie qui possède un groupe hydrophile et un groupe lipophile. Toutefois, lytique, du grec *lytos*, signifie 'qui peut être rompu', divisé, dissocié (comme dans le sens d'électrolyte). S'il faut le prendre dans le sens 'ionisé en solution', cela peut être envisageable. Ainsi, ampholyte signifierait 'chacun des deux ions', cationique et anionique. En grec ancien *amphóteros* signifiait « chacun des deux ». Le terme amphotère est très utilisé pour décrire les agents

zwitterioniques. Le terme zwitterionique qui vient de l'allemand *zwitter* (hybride), désigne 'deux caractères ioniques'. Un zwitterion peut cependant être considéré comme ayant 50 % de caractère anionique et 50 % de cationique, impliquerait que le dérivé d'amidon possède les deux fonctions en quantité (ou force ionique) équivalente.



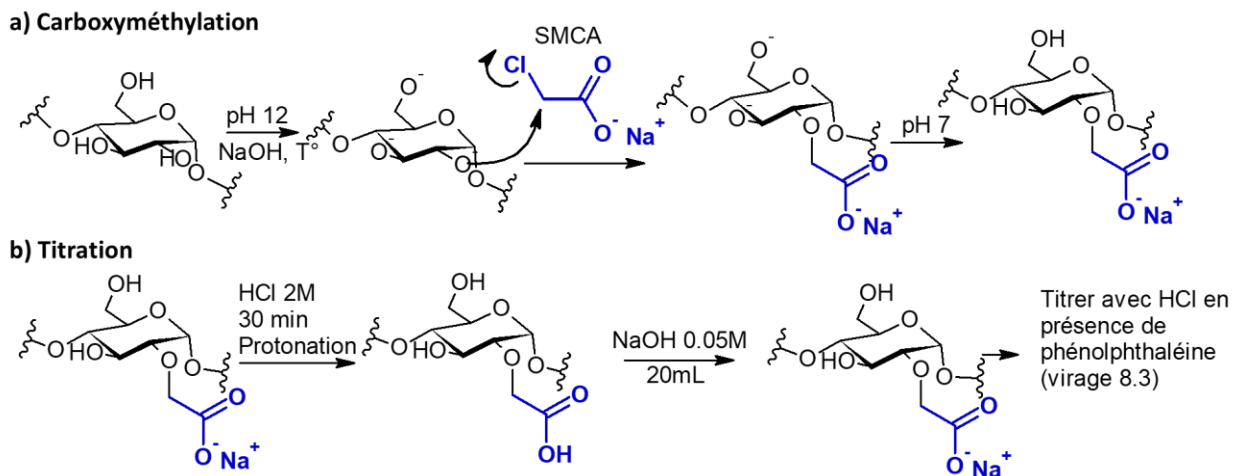
**Figure 2.9** Structure de quelques amidons modifiés. R=amidon.

Les 'Ampholines' (Pharmacia Biotechnology, Uppsala, Suède) sont des matériaux de type polyamines portant aussi des fonctions polycarboxyliques, utilisés pour créer des gradients de pH dans des gels ou des colonnes (Deng *et al.*, 2020). Un agent amphotérique est une molécule ou un ion qui peut réagir comme un acide ou une base. Il semblerait que 'amphotère' serait un adjectif tandis que 'ampholyte' désignerait le nom. Un ampholyte serait une espèce chimique avec un caractère amphotère. En conclusion, il semblerait que les termes ampholytique et amphotérique sont bons mais pas amphiprotique et zwitterionique. Les amidons ampholytiques sont utilisés dans le domaine biomédical pour leur interaction avec les protéines (chapitre 1). En chimie de l'eau, ils sont utilisés pour leur capacité à complexer des métaux et comme flocculants pour traiter les eaux usées (Song *et al.*, 2009). Dernièrement, des amidons ampholytiques ont été obtenus et utilisés comme matrices monolithiques pour la livraison de hautes charges d'agents actifs (Benyerbah *et al.*, 2019; Sakeer *et al.*, 2018).

### 2.2.2.1 Le carboxyméthyl amidon

L'ajout d'une nouvelle fonction carboxyle est utile pour diminuer la rétrogradation, augmenter la solubilité, la mucoadhésion et même pour complexer des métaux (*i.e.* pour le traitement des eaux). La carboxyméthylation se fait selon l'éthérisation de Williamson, découverte en 1850 par A. W. Williamson (Wisniak, 2009). En présence de NaOH, les hydroxyles sont transformés en alkoxides. Avec une charge négative, l'anion d'oxygène peut effectuer une substitution nucléophile sur un dérivé halogéné comme le chloroacétate de sodium.

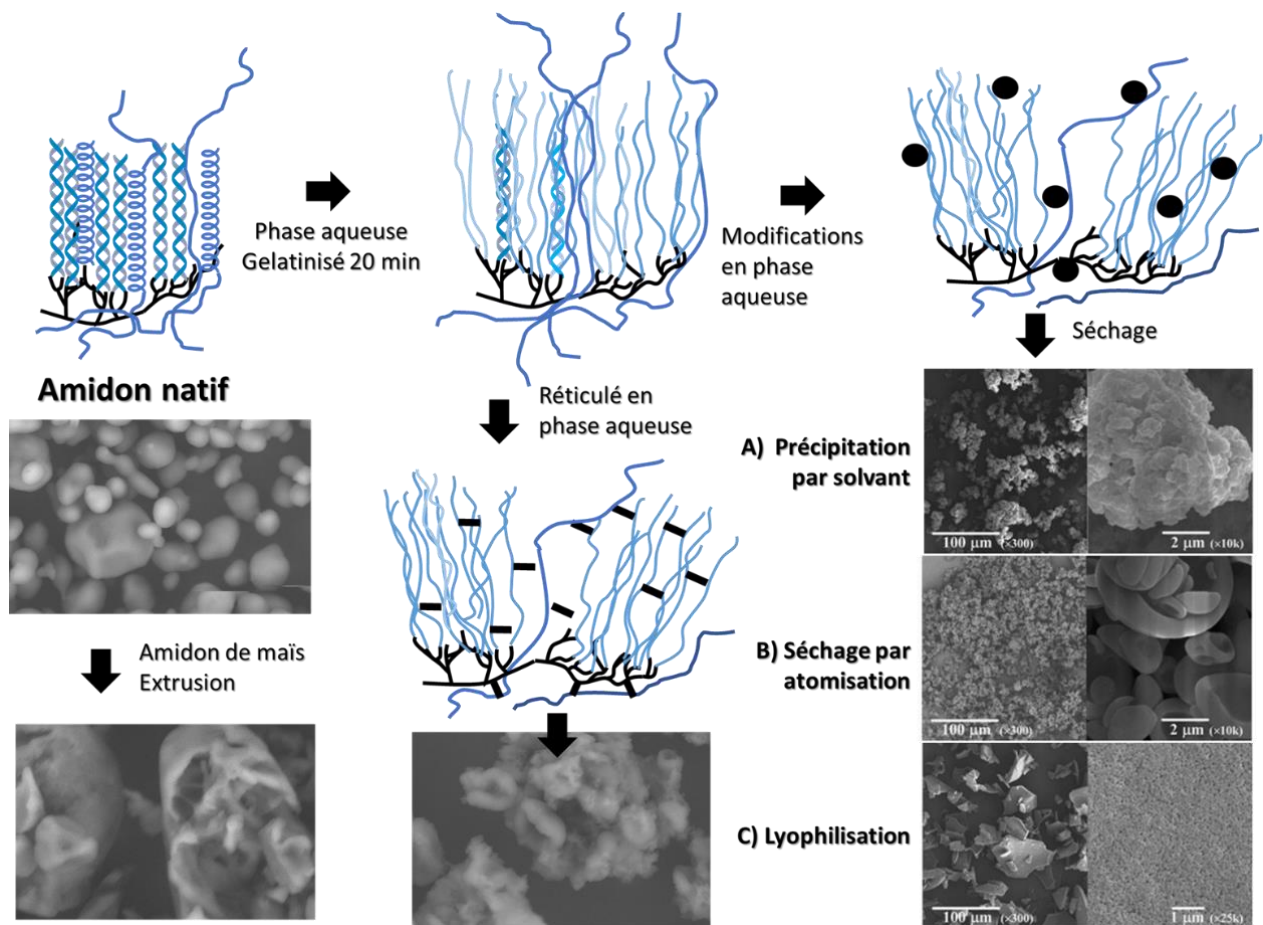
Le glycolate d'amidon sodique (Paul J. Sheskey *et al.*, 2009) est un terme utilisé pour désigner le carboxyméthyl amidon (réticulé ou non). Cependant, le terme glycolate peut porter à confusion car pour les éthers d'amidon, le lien éther n'est pas inclus dans la dénomination du groupe fonctionnel. Le carboxyméthyl amidon (CMA) de pomme de terre, grandement soluble, est utilisé comme désintégrant et forme des films très solubles (*i.e.* Vivastar® de JRS Pharma). Le carboxyméthyl amidon riche en amylose (CMARA) est moins soluble (UQAM). Il permet de protéger contre l'acidité gastrique et est utilisé pour les formulations orales à libération ciblée à l'intestin grêle ou le côlon (Calinescu *et al.*, 2007). Les applications des CMA de différentes sources comme excipients pharmaceutiques ainsi que des aspects liés à leur utilisation ont été décrites en détails au chapitre 1.



**Figure 2.10** Carboxyméthylation de l'amidon par l'éthérisation de Williamson (a) et titration inverse avec du HCl (b). SMCA : monochloroacétate de sodium.

### 2.2.3 Impact des modifications sur la structure de l'amidon

Plusieurs paramètres vont affecter l'organisation de l'amidon comme illustré à la **fig. 2.11** : la gélatinisation (milieu aqueux), la température, le type des nouvelles fonctions et la méthode de séchage. En phase aqueuse, la gélatinisation et la désorganisation sont plus prononcées qu'en phase organique. La présence ou l'absence des liens hydrogène intermoléculaires distingue les différents procédés de séchage. La lyophilisation ou le séchage d'un gel ou d'une pâte d'amidon génèrera des matériaux amorphes et poreux (*i.e.* mousses ou 'gâteaux'). Réduits en poudre, les produits seront plus solubles car sans rétrogradation, les cristaux seront petits et désordonnés, créant des pores et des défauts.



**Figure 2.11** Structure de l'amidon influencée par la gélatinisation, les modifications chimiques et le type de séchage. Adaptation d'après (Labelle *et al.*, 2020; Lemieux *et al.*, 2010).

Dans des articles récents (Assaad et Mateescu, 2010; Calinescu et Mateescu, 2008; Labelle *et al.*, 2019), après la modification aqueuse de l'amidon, le mélange réactionnel est neutralisé puis le dérivé est précipité à l'aide d'un solvant moins polaire que l'eau (*i.e.* le méthanol). L'alcool a plus d'affinité avec l'eau qui est très polaire, ce qui déshydratera l'amidon. Le méthanol contient des liens C-H, aprotiques et moins

polaires, offrant un pouvoir de solvatation plus faible que l'eau. Les hydroxyles de l'amidon vont donc former des liens hydrogènes entre eux, amorçant la réorganisation des chaînes et l'agglomération des particules. Les solvants polaires protiques peuvent solubiliser des petits polyols comme des sucres mais pas des gros polyols comme l'amidon (l'amylopectine, plus branché, précipite plus rapidement que l'amylose).

En augmentant progressivement la concentration en méthanol, l'amidon va pouvoir se réorganiser en suspension avec un minimum de contact entre les particules. La forme des particules après la précipitation par solvant est semblable à celle des poudres obtenues par séchage par pulvérisation (*spray-drying*).

Par précipitation avec du solvant, les particules d'amidon ont le temps de se réorganiser (rétrograder) avant d'être en contact avec les autres particules. Cela diminue leur solubilité en comparaison aux amidons qui sont séchés sans rétrogradation (*i.e.* lyophilisation des gels d'amidon).

Il est important de noter que pour l'amidon, le terme amorphe ne correspond pas nécessairement à soluble. Un matériau majoritairement amorphe peut être très dense et avoir une faible solubilité (comme la granule d'ARA).

### 2.3 Développements et caractéristiques des films d'amidon natif

Les films plastiques sont essentiels dans différents domaines mais la majorité sont synthétiques et non biodégradables (Glenn *et al.*, 2014). Ils permettent de protéger les produits les uns des autres ou contre l'environnement, contre le frottement, manipulations, etc. Les films peuvent être fonctionnels comme les adhésifs, les textiles, les formulations pharmaceutiques orales ou dermales et les produits orodispersibles. Ils peuvent servir de support (textile, tapis, culture de cellule) ou de matrice pour l'absorption (absorbants, livraison des médicaments, papier indicateur). Généralement, leur application nécessite une bonne flexibilité et une protection contre l'humidité.

Les films à base d'amidon sont intéressants pour remplacer les films de polymères synthétiques. L' $\alpha$ -amylase, produite par différents micro-organismes, clive le lien  $\alpha$ -1,4 de l'amidon et permet la décomposition. Différemment de certaines pellicules plastiques, les films d'amidon sont perméables à la vapeur d'eau. Ce peut être un inconvénient ou un avantage, selon l'application. La perméabilité dépend des propriétés de l'amidon (type, modifications, solubilité) et du film (épaisseur, plastifiant, humidité). Le

**tableau 2.5** montre que la perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) des biofilms est plus grande que celle des films plastiques (Keller et Kouzes, 2017; Monteiro *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2018).

Pour obtenir un film, la surface de contact entre les molécules doit être grande, sinon le film sera fragile (*i.e.* film de petites molécules comme le sorbitol) ou le matériau sera non-filmogène (*i.e.* les granules d'amidon qui ne sont pas gélatinisées). Lorsqu'un gel d'amidon est déshydraté sous forme de couche, pellicule ou revêtement, il est possible d'obtenir un film. Le 'coulage', en anglais 'casting', est un procédé de fabrication répandu qui consiste à verser un liquide, une pâte ou un matériau fondu puis à le sécher ou le refroidir (thermoformage). Des solutions filmogènes d'amidon peuvent être évaporées dans des moules avec ou sans chauffage.

**Tableau 2.5 Perméabilité à la vapeur d'eau (PVE) des films de différents matériaux à 25 °C, 1 atm (Keller et Kouzes, 2017; Monteiro *et al.*, 2018; Pérez-Gallardo *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018).**

	Perméabilité à la vapeur d'eau, PVE (g·µm·m <sup>-2</sup> ·jour <sup>-1</sup> ·kPa <sup>-1</sup> )	Perméabilité à la vapeur d'eau, PVE (g·mm·m <sup>-2</sup> ·h <sup>-1</sup> ·kPa <sup>-1</sup> )
<b>Polymères biodégradables</b>		
Polyvinyl alcool	41904	1.746
Papier	16416	0.684
Amidon:glycérol 5:1	14515	0.605
Amidon:sorbitol 5:4	15408 (Maïs, acétylé, réticulé) 14112 (Maïs, cireux) 13728 (Oxydé) 12552 (OSA, hydrolysé)	0.642 0.588 0.572 0.523
Acide polylactique	1642	0.068
Polycaprolactone	1510	0.063
<b>Polymères plastiques</b>		
Polyéthylène	86	0.00358333
Plexiglas	5.25	0.00021875
Caoutchouc	3.76	0.00015667
Neoprene	1.49	0.00006208
Chlorure de polyvinyle	0.451	0.00001879
Polyéthylène téréphthalate	0.213	0.00000888
Polypropylène	0.0575	0.00000240
Teflon	0.00788	0.00000033
Saran	0.000821	0.00000003

Pour donner une solution filmogène, l'amidon doit pouvoir se solubiliser complètement et pour obtenir un film uniforme, l'amidon ne doit pas rétrograder (sinon le film craquera). Pour solubiliser l'amidon, il est possible de chauffer mais si l'amidon est cristallin au départ, il risque de rétrograder et craquer le film. C'est pourquoi on utilise l'amidon soluble en eau froide (*cold-water soluble*, CWS).

Pour obtenir un film rapidement, il est préférable d'utiliser une solution filmogène à haute concentration. Pour cela, l'amidon doit être partiellement hydrolysé, sinon il est trop visqueux. D'autre part, l'hydrolyse trop avancée diminue la force du film (résistance à la cassure). En général, un plastifiant est requis pour améliorer les propriétés plastiques (élongation, déformation, flexibilité).

### 2.3.1 Caractérisation des films

Selon leurs applications, les films sont essentiellement caractérisés par leur épaisseur, propriétés mécaniques (élongation, force de traction maximale), perméabilité aux gaz, la tension de surface (*i.e.* l'angle de contact) ou parfois leur opacité et leur goût (Garcia *et al.*, 2018; Pérez-Gallardo *et al.*, 2012). La flexibilité peut être décrite par l'élongation, obtenue par un test de traction qui mesure la force nécessaire pour étirer un matériau sur une longueur donnée (Biduski *et al.*, 2017). Ce test permet aussi de mesurer la résistance à la traction et le module d'Young (force nécessaire pour l'élongation).

Selon leurs applications, les films sont aussi caractérisés par leur adhésivité, tension de surface, stabilité, solubilité, dégradabilité et digestibilité. La cristallinité et la séparation de phase peuvent être observées par microscopie optique ou électronique à balayage (Veiga-Santos *et al.*, 2008). La PVE est mesurée entre autres selon deux méthodes classiques. La méthode sèche utilise un dessiccant dans un récipient, clos par le film à étudier, le tout placé à côté d'un bécher d'eau, en milieu fermé. La méthode humide utilise un récipient d'eau, clos par le film à étudier. Dans les deux cas, le changement de masse du montage est mesuré en fonction du temps.

### 2.3.2 Procédés de fabrication

En industrie et à grande échelle, les films en général sont obtenus par extrusion, compression thermique en présence d'eau ou moulage par injection. De nombreuses publications sont disponibles sur le sujet des films d'amidon obtenus par *casting*, c'est-à-dire par évaporation d'une solution filmogène dans un moule. Industriellement, ce procédé est peu rentable dû au temps de séchage mais permet une bonne évaluation préliminaire des films. Le *scale-up* d'un tel procédé est le séchage sur ruban (*tape-casting*) et a été étudié

avec l'amidon (de Moraes *et al.*, 2013). Des films d'amidon ont aussi été obtenus par soufflage (Pelissari *et al.*, 2012; Zullo et Iannace, 2009).

### 2.3.3 Développements concernant les films d'amidon

Historiquement, l'un des premiers brevets au sujet des films d'amidon (tableau 2.6) concernait des couches insolubles comme revêtement textile (Lolkema et Cornelis, 1941). L'amidon était modifié (ester ou éther) en présence d'hydroxyde de sodium et d'une quantité limitée d'eau pour former une masse qui était directement pressée en un film avec ou sans chauffage. La masse pouvait aussi être pressée sur les textiles, par exemple, pour protéger les bases des tapis.

Lorsque l'amylose est devenue disponible sur le marché, elle était complexée avec le *n*-butanol en solution. Cette solution pouvait être séchée directement en film (Davis *et al.*, 1949). Des esters et éthers aliphatiques d'amylose ont permis d'obtenir des poudres solubles et des films résistants à l'eau (Rutenberg *et al.*, 1957). Des chaînes alkyles portant des hydroxyles ont augmenté la flexibilité et la résistance à la fracture (Fisher et Estes, 1960).

**Tableau 2.6 Brevets concernant les films d'amidon**

<b>Brevet</b>	<b>Titre</b>
(Lolkema et Cornelis, 1941)	<i>Process of forming insoluble layers from carbohydrates</i>
(Davis <i>et al.</i> , 1949)	<i>Process of producing amylose films</i>
(Wolff <i>et al.</i> , 1950)	<i>Process for the production of amylose films</i>
(Rutenberg <i>et al.</i> , 1957)	<i>Water-dispersible, partially substituted derivatives of amylose</i>
(Fisher et Estes, 1960)	<i>Hydroxyalkylation of amylose suspension and product produced thereby</i>
(Klug, 1960)	<i>Amylaceous compositions for shaped articles and process</i>
(Wurzberg et William, 1963)	<i>Water dispersible high amylose starch</i>
(Protzman <i>et al.</i> , 1964)	<i>Process of casting amylose films</i>
(Young, 1963a)	<i>Amylosic material plasticized with quaternary ammonium salt</i>
(Young, 1963b)	<i>Polyvinyl alcohol plasticized amylose compositions</i>
(Buckler et Germino, 1964)	<i>Amylose film</i>
(Griffin, 1976)	<i>Synthetic resin sheet material</i>
(Frische <i>et al.</i> , 1990)	<i>Special amyloses and their use in the production of biologically degradable plastics</i>
(Knight, 1990)	<i>Starch derived shaped articles</i>



Des amidons modifiés ont été mélangés avec un plastifiant et conditionnés à 50 % d'humidité (environ 8 % d'eau au final) avant d'être granulés et extrudés sous forme de film (Klug, 1960). Il fut observé que les films avec un grand ratio d'amylose étaient plus résistants à la fracture et plus flexibles. À ce moment, les amidons riches en amylose (ARA) sont devenus plus connus et accessibles. Avec ses propriétés intéressantes, l'ARA a généré des films plus robustes que les autres amidons. Toutefois, à cause de sa solubilité, il nécessitait un traitement hydrothermal à plus de 100 °C et sous pression pour gélatiniser complètement. Un matériau qui se solubilisait à des températures plus acceptables (60 – 100 °C) a été obtenu en traitant l'ARA avec un broyage par attrition à l'aide de rouleaux mécaniques (Wurzburg et William, 1963). Les films obtenus étaient plus homogènes, lisses et robustes que ceux faits d'amidon sans broyage. Le broyage en présence de sorbitol (*ex.* à 50 %) a donné des films plus homogènes et robustes.

#### 2.3.4 Les publications concernant les films d'amidon non-fonctionnalisé

Le **tableau 2.7** rassemble des publications des 30 dernières années à propos des films d'amidons natifs. En conclusion, le choix des plastifiants (sorbitol ou glycérol) et leur concentration jouent un rôle important dans la cristallinité, la flexibilité et la PVE. L'humidité relative (HR) a un impact déterminant sur les propriétés mécaniques. Les amidons cireux sont peu utilisés car ils rétrogradent beaucoup.

Par la suite, plusieurs auteurs ont essayé d'obtenir des films en combinant l'amidon natif avec d'autres matériaux comme le chitosane (Chillo *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2005b), la CMC (Tavares *et al.*, 2020), la gélatine (Garcia *et al.*, 2018; Tongdeesoontorn *et al.*, 2009), le PVA (Gómez-Aldapa *et al.*, 2020; Yoon, 2014). La présence d'hydroxyles dans les polymères associés est bénéfique, permettant la formation des ponts hydrogène. Dans tous les cas, en présence des autres polymères, les propriétés mécaniques sont améliorées ainsi que la PVE.

En conclusion, l'amidon natif est un matériau abordable qui permet d'obtenir différents produits en utilisant des plastifiants ou en l'associant à un deuxième polymère.

#### 2.4 Les films d'amidon modifié

Dernièrement, les avancées dans le domaine des films sont surtout axées sur la modification de l'amidon en tant que matière première. Des films d'amidon réticulé ont été obtenus avec l'épichlorohydrine, ou 2-(chlorométhyl)oxirane (Qiu *et al.*, 2013; Rioux *et al.*, 2002), du trimétaphosphate sodique, STMP (Pérez *et al.*, 2012) ou avec de l'acide citrique (Menzel, 2020).

**Tableau 2.7 Publications sur des films d'amidon non-fonctionnalisés. La majorité compare différents amidons et utilise sorbitol ou glycérol comme plastifiants.**

Références	Observations
(Bader et Göritz, 1994)	L'HR influence l'élongation. L'ARA doit être traité à l'autoclave à 155 °C
(Lourdin <i>et al.</i> , 1995)	L'amylose est plus extensible que l'amylopectine
(García <i>et al.</i> , 1999)	L'ARA et le sorbitol donnent des films avec PVE plus faible que glycérol ou amidons à bas %AM
(García <i>et al.</i> , 2000)	Films avec sorbitol moins cristallins qu'avec glycérol
(Gaudin <i>et al.</i> , 2000)	Sorbitol est antiplastifiant à conc. < 20 %
(Palviainen <i>et al.</i> , 2001)	20 % glycérol ou sorbitol n'a pas d'effet plastifiant
(Forssell <i>et al.</i> , 2002)	La perméabilité dépend de l'humidité relative.
(Mali <i>et al.</i> , 2002)	De 0 à 45 % glycérol, la PVE augmente de 30 %
(Rindlav-Westling <i>et al.</i> , 2002)	Séparation de phase des films lorsque séchés lentement à haute HR
(Tarvainen <i>et al.</i> , 2002)	La PVE était plus basse que pour éthylcellulose
(Mali <i>et al.</i> , 2004)	Le glycérol augmente la perméabilité
(Mali <i>et al.</i> , 2005)	Glycérol et sorbitol ont le même effet à 40 %
(Famá <i>et al.</i> , 2006)	Sorbate de potassium diminue la cristallinité
(Zhang et Han, 2006)	Sorbitol plus efficace que glycérol
(Mali <i>et al.</i> , 2006)	Les propriétés mécaniques ne changent pas après 90j
(Bertuzzi <i>et al.</i> , 2007)	La PVE augmente avec la température
(Famá <i>et al.</i> , 2007)	Augmentation de cristallinité après 8 semaines
(Talja <i>et al.</i> , 2007)	L'HR influence les propriétés mécaniques
(Bergo <i>et al.</i> , 2008)	Présence de cristallinité avec 45 % glycérol
(Müller <i>et al.</i> , 2008b)	Plastifiants augmentent la PVE mais pas la solubilité
(Galdeano <i>et al.</i> , 2009)	Pas d'élongation à HR < 60 %
(Zullo et Iannace, 2009)	Films obtenus par soufflage ( <i>blowing</i> )
(López et García, 2012)	Glycérol augmente PVE et la solubilité
(Tapia <i>et al.</i> , 2012)	Diminue les échanges de gaz

**HR : humidité relative. PVE : perméabilité à la vapeur d'eau**

La réticulation avec STMP semble augmenter la résistance mécanique des films et aussi la PVE (Gutiérrez *et al.*, 2015). Le STMP réduit la flexibilité mais augmente la résistance mécanique et l'élongation (Woggum *et al.*, 2014). Il réduit aussi le gonflement (Colivet et Carvalho, 2017). Des films ont été obtenus de différents amidons modifiés (**tableau 2.8**). Les modifications utilisées sont surtout l'acétylation et l'hydrolyse. Ces modifications semblent augmenter la résistance mécanique des films et la PVE. Par exemple, l'hydrolyse acide brise les chaînes, diminuant leur masse moléculaire, ce qui diminue la viscosité. L'hydrolyse libre des fragments d'amidon tels des dextrines et maltodextrines, lesquels peuvent former davantage de liaison hydrogène, augmentant la résistance des gels.

**Tableau 2.8 Principales modifications de l'amidon pour le rendre filmogène**

Modification	Observations	Référence
Réticulation	Réduit la cristallinité	(Rioux <i>et al.</i> , 2002)
Acétylé	Fragiles sans plastifiants. Glycérol augmente PVE	(López <i>et al.</i> , 2008)
	Augmente la résistance mécanique	(López <i>et al.</i> , 2011)
	PVA comme plastifiant	(Isotton <i>et al.</i> , 2015)
	Augmente l'élongation	(Colussi <i>et al.</i> , 2017)
Acidifié et oxydé	Augmente la résistance mécanique et PVE	(Biduski <i>et al.</i> , 2017)
Hydrolysé	Augmente la résistance mécanique	(Zhang <i>et al.</i> , 2019)
Acétylé et hydroxypropylé	Augmente l'élongation et la solubilité	(Shaikh <i>et al.</i> , 2019)
Hydrolysé et hydroxypropylé	Améliore l'élongation	(Hu <i>et al.</i> , 2019)
Ozonation	Diminue l'élongation	(La Fuente <i>et al.</i> , 2019)

Plusieurs amidons modifiés filmogènes sont disponibles sur le marché en alimentation et pour le domaine pharmaceutique. Ils ont des propriétés bien précises qui permettent des applications spécifiques. En alimentation, la gélatinisation peut être requise avec ou sans chauffage (*i.e.* épaissir une sauce à froid ou à chaud) et étroitement liée à la capacité de former un film. La viscosité et la rhéologie des solutions d'amidons filmogènes sont proches de celles des solutions d'amidons utilisés comme liants (Gopalsamy *et al.*, 2019).

#### 2.4.1 Les amidons modifiés filmogènes commerciaux

L'amidon de pois est surtout produit à partir de pois jaune (*Pisum sativum*). C'est un amidon ayant un ratio d'amylose modéré et donc qui rétrograde un peu moins que les amidons réguliers. Particulièrement, il est moins cher que les autres amidons car c'est un sous-produit de l'extraction des protéines de pois. Il n'est pas très utilisé en alimentation car il a une faible viscosité. L'hydroxypropylation sert entre autre à augmenter la solubilité comme pour le produit Lycoat® (Ratnayake *et al.*, 2002), ce qui le rend soluble dans l'eau froide. Il est aussi hydrolysé, ce qui diminue sa viscosité. Une basse viscosité permet d'utiliser une solution filmogène plus concentrée et accélérer la fabrication des films. De grade pharmaceutique, il est utilisé pour former des films pour l'enrobage des comprimés (pelliculage). Lycoat® est utilisé pour masquer le goût des comprimés et faciliter l'avalement. Soluble, il se dissoudra dans l'estomac. Il a aussi été utilisé pour formuler des films oculaires d'hydrochlorure d'azélastine, un anti-histaminique pour traiter les conjonctivites et les cataractes (Patil et Mahajan, 2021).

Les amidons modifiés filmogènes commerciaux sont rapportés au **tableau 2.9**. La plupart sont de grade alimentaire. L'octénylsuccinate d'amidon (**OSA**) est commercialisé par plusieurs producteurs. C'est généralement un amidon de maïs cireux, pré-gélatinisé et modifié à l'aide de l'anhydride octénylsuccinique. L'OSA possède des chaînes secondaires additionnelles courtes, avec une section polaire et une section non-polaire. Ces deux sections agissent comme émulsifiant. La haute masse moléculaire de l'amidon permet, en plus, de stabiliser les émulsions. Finalement, les fonctions octénylsuccinate empêchent la rétrogradation et assurent une solubilisation rapide. Le **tableau 2.9** montre aussi que plusieurs amidons modifiés peuvent être filmogènes. Le point clé des technologies réside plutôt dans la facilité du processus de solubilisation.

**Tableau 2.9** Quelques amidons filmogènes commerciaux

Product	Starch	CWS	HC	F	Application	Référence
Mira Cap® (Lyle & Tate)	Octénylsuccinate d'amidon ( <b>OSA</b> ) de maïs	X	X	X	Emulsion, encapsulation, <i>spray-drying</i>	(Medhekar <i>et al.</i> , 2013; Zasytkin et Porzio, 2004)
Hi-Cap100 (Ingredion)	OSA - Amidon de maïs cireux, basse MM	X	X	X	Émulsifiant, Remplacer gomme arabique, Électrofilage	(Li <i>et al.</i> , 2021) (Dokic <i>et al.</i> , 2008)
Purity Gum® (Ingredion)	OSA - Amidon de maïs cireux, haute MM	X	X	X		
Crispfilm® (Ingredion)	Acétate d'ARA (30% AM)	X	-	X	Friture - Diminuer l'absorption d'huile.	(Gopalsamy <i>et al.</i> , 2019)
Amidomax 4500® (Cargill)	Amidon de manioc CL Pré-gélatinisé	-	-	X	Alimentation	(Colivet et Carvalho, 2017)
Lycoat® (Roquette)	Hydroxypropyl amidon de pois (hydrolysé)	X	X	X	Enrobage des comprimés	(Karrout <i>et al.</i> , 2009)
Nutriose (Roquette)	Dextrine d'amidon de blé	X	-	X	Fibres solubles	
Glucidex (Roquette)	Amidon de maïs hydrolysé et <i>spray-dried</i>	-	-	X	Pharmaceutique, nutraceutique. Liant, remplissage	
Eurylon 6 HPPG (Roquette)	ARA maïs, hydroxypropylé et pré-gélatinisé	X	-	X	Alimentation Fibres (amidon résistant)	

**CWS : soluble en eau froide, HC : Haute concentration, F : Filmogène, CL : Réticulé (*cross-linked*), Roquette : Roquette et Frères (Fr).**

L'utilisation d'autres matériaux dans les films d'amidon est un bon moyen d'améliorer leurs propriétés antibactériennes. L'ajout d'huile essentielle (Kechichian *et al.*, 2010; Souza *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2013), de nanoparticules d'argent (Mehr *et al.*, 2017) ou d'antioxydants (Menzel *et al.*, 2020) a été étudié. Pour former des films homogènes, ces matériaux doivent être compatibles avec l'amidon, par exemple en formant des liens hydrogène. La compatibilité entre les matériaux peut être évaluée par microscopie en observant l'homogénéité des phases dans le film. L'homogénéité peut être influencée par la rétrogradation de l'amidon (Veiga-Santos *et al.*, 2008). Plusieurs brevets ont été déposés rapportant la conception de films utilisant l'amidon avec d'autres matériaux e.g. Mater-bi® qui est composé d'amidon et

de polyesters aromatiques (Aldas *et al.*, 2020). Biodégradable et compostable, Mater-bi® peut être utilisé pour l'extrusion, le soufflage, la thermocompression, le *casting* et le moulage par injection.

## 2.5 Applications

Les films d'amidons sont biodégradables et possiblement comestibles. Ils peuvent être à désintégration rapide ou lente. Les films à désintégration rapide sont utilisés pour la livraison orale des médicaments, agents actifs ou suppléments (en anglais : *orally disintegrating films* ODF). Pour cette application, la solubilité doit être élevée. Dans le domaine biomédical, les films à désintégration lente servent à couvrir les blessures ou à la livraison transdermique (**chap. 1, tableau 1.2**). Il existe plusieurs amidons filmogènes sur le marché et les films d'amidons sont de plus en plus étudiés pour le remplacement des polymères synthétiques ou non-biodégradables. Ces biofilms visent des applications comme l'emballage de produits ou l'enrobage d'aliment. Pour les emballages dégradables, une bonne flexibilité est recherchée mais surtout une réduction de la PVE. La confection des films composites est la dernière tendance incluant des composés actifs pour obtenir des emballages ou enrobages fonctionnels, par exemple avec la cire d'abeille (Cai *et al.*, 2020), la carboxyméthylcellulose (Tavares *et al.*, 2020), le chitosane (Jha, 2020), le PVA (Gómez-Aldapa *et al.*, 2020) et la gélatine (Garcia *et al.*, 2018).

## CHAPITRE 3

### L'AMIDON POUR L'ENROBAGE DES COMPRIMÉS

#### 3.1 Histoire des enrobages entériques

Le concept d'enrobage des formulations a plus de 2500 ans mais ce n'est que depuis récemment que des enrobages entériques sont utilisés (**fig. 3.1**). Vers 1500 avant Jésus-Christ, en ancien Égypte, des boulettes de médicament étaient enrobées avec du miel pour adoucir leur goût et les protéger de l'humidité (Becelaere, 1929). De tels produits, inspirés des confiseries, se trouvaient plus tard chez les apothicaires Islamiques au 10<sup>e</sup> siècle et Français au 17<sup>e</sup> siècle (Parveen, 2017). Le processus de compression était connu des Romains qui avaient des moules à comprimés (Wood, 1906). Les comprimés sont devenus plus accessibles après la valorisation du processus de compression par le professeur Brockeden en 1844. À ce moment, les produits chimiques comprimés étaient nouveaux et recherchés. Diverses inventions ont alors vu le jour permettant d'enrober plusieurs comprimés à la fois, par exemple en les immobilisant sur des tiges ou des clous (Griffenhagen et Sonnedecker, 1957).

Vers 1850, plusieurs brevets revendiquaient des appareils et des matériaux à enrobage comme la gélatine ou des sucres. En 1878, le procédé d'enrobage par compression a été inventé (Carter, 1878). En 1884, un enrobage est utilisé pour protéger une formulation pendant le transit dans l'estomac, idée du dermatologue allemand Dr. Paul G. Unna (Cowen, 2002). Il démontra que des comprimés enrobés de kératine résistaient à un médium acide mais se solubilisait à pH neutre et ce fut le début du principe des médicaments ciblés. À ce moment, il n'était pas possible de suivre les formulations et de vérifier leur efficacité. Les décennies qui suivent vont voir passer plusieurs produits naturels en tant que matériaux d'enrobage comme des résines (schellac) ou pectines (Dulin, 2011). En 1899, Aspirin® (Bayer, 1863) devient disponible sur le marché international et le comprimé monolithique devient la forme d'administration la plus utilisée. Plus de 40 ans après la découverte des rayons X (Roentgen, 1895), des comprimés enrobés de shellac ont été suivis *in vivo*. Une même formulation pouvait avoir des temps de dissolution différents à cause de la grande variabilité de la qualité et de la stabilité du shellac. Les matériaux

utilisés comme enrobages pour les comprimés vont ensuite évoluer vers les produits semi-synthétiques (fig. 3.1).

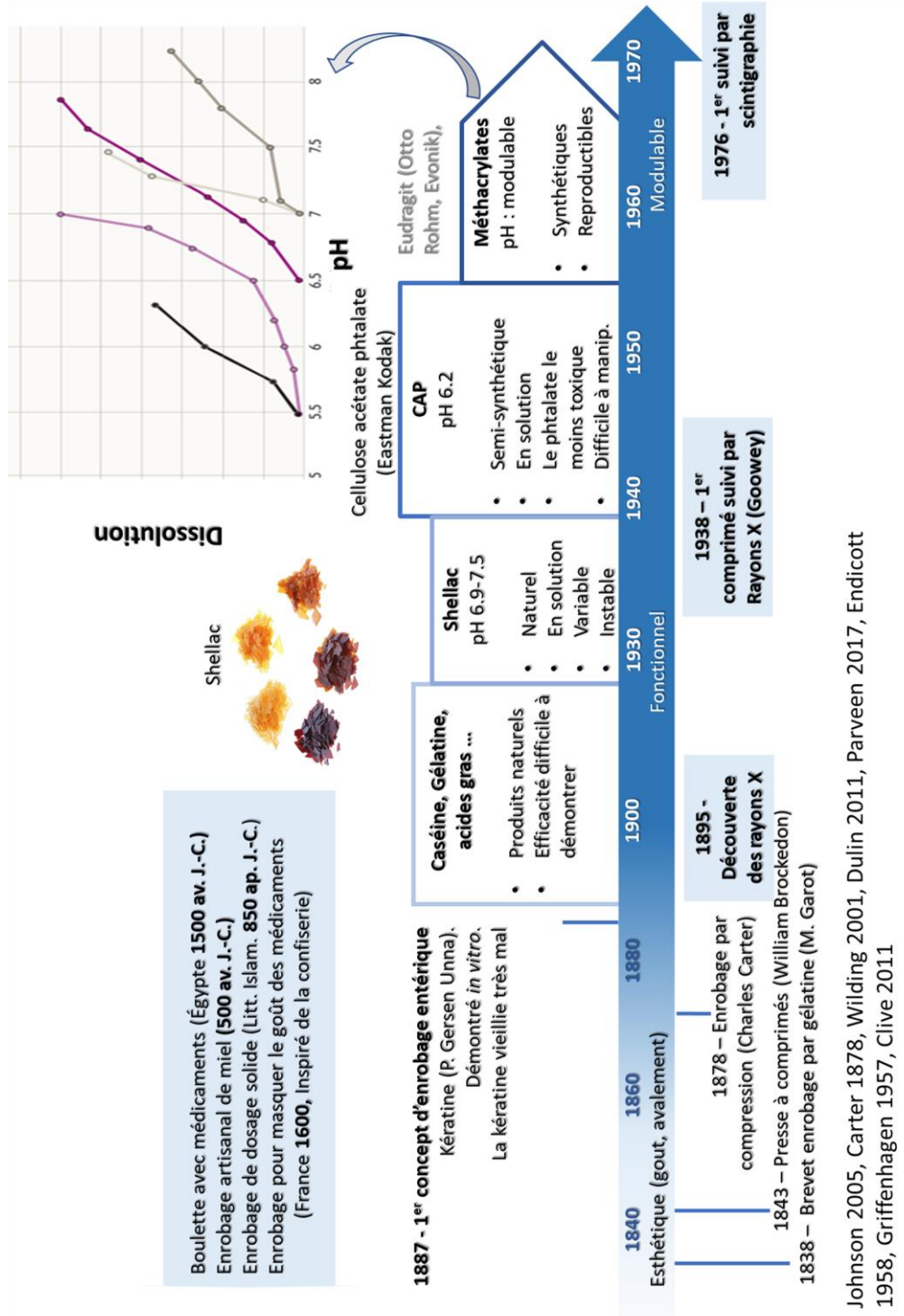


Figure 3.1 Matériaux pour l'enrobage des comprimés et les techniques de suivi *in vivo*. Données recueillies dans : (Carter, 1878; Dulin, 2011; Endicott et al., 1958; Florence, 2011; Griffenhagen et Sonnedecker, 1957; Johnson, 2005; Parveen, 2017; Wilding et al., 2001). CAP, en anglais : *cellulose acetate phthalate*.

Les phthalates *e.g.* de cellulose (Eastman Kodak), des polymères semi-synthétiques, vont devenir populaires pour rapidement laisser la place aux méthacrylates, complètement synthétiques et modulables, idée du Dr. Otto Röhm (inventeur du Plexiglas®). Solubles dans l'eau, ils sont plus maniables que les phthalates et permettent la combinaison avec des additifs. La possibilité d'appliquer un enrobage aqueux était une avancée remarquable. Le premier excipient formulé pour l'enrobage est apparu peu après, Filmtab® par Abbott Laboratories. Le shellac est toujours le polymère naturel ayant les meilleures propriétés entériques et le plus utilisé pour l'enrobage des formulations entièrement naturelles (Pearnchob *et al.*, 2004).

### 3.2 Développements des enrobages à base d'amidon

Au chapitre 1, plusieurs aspects ont été discutés à propos des comprimés monolithiques à base d'amidon modifié. Au chapitre 2, il a été vu qu'une multitude d'études rapporte une grande variété de films à base d'amidons modifiés. Selon le type d'amidon, la solubilité des films variait. Pour être utilisé comme enrobage, un amidon nécessite des propriétés semblables à celles requises pour former des bons films : gélatinisation facile, viscosité basse et le film doit être flexible, homogène, stable dans le temps. Il faut ajouter que l'enrobage doit sécher rapidement et adhérer aux comprimés. Ce sont principalement des paramètres qui peuvent être optimisés pendant le processus d'enrobage. Toutefois, l'interaction entre l'enrobage et le comprimé sera influencée par les types de matériaux. Par exemple, les carbohydrates adhèrent bien entre eux à cause des nombreuses fonctions hydroxyles formant des ponts hydrogène. Comme abordé au chapitre 2, le séchage de la solution filmogène entraîne le rapprochement des chaînes d'amidon. Des sections d'amylopectine vont être en contact avec les sections d'autres amylopectines; l'amylose formera un réseau complexe entremêlé. En séchant, toutes ces structures désorganisées formeront un réseau dense, amorphe, avec une organisation très différente des poudres d'amidon.

#### 3.2.1 Les procédés d'enrobage industriels

Les enrobages sont classés en quatre types : i) les enrobages par compression des poudres sèches, ii) les enrobages en sucre (dragéification), iii) les enrobages par film (pelliculage) et iv) les capsules. Il est aussi possible d'enrober des comprimés par moulage par injection, ou coextrusion (Desai *et al.*, 2018).

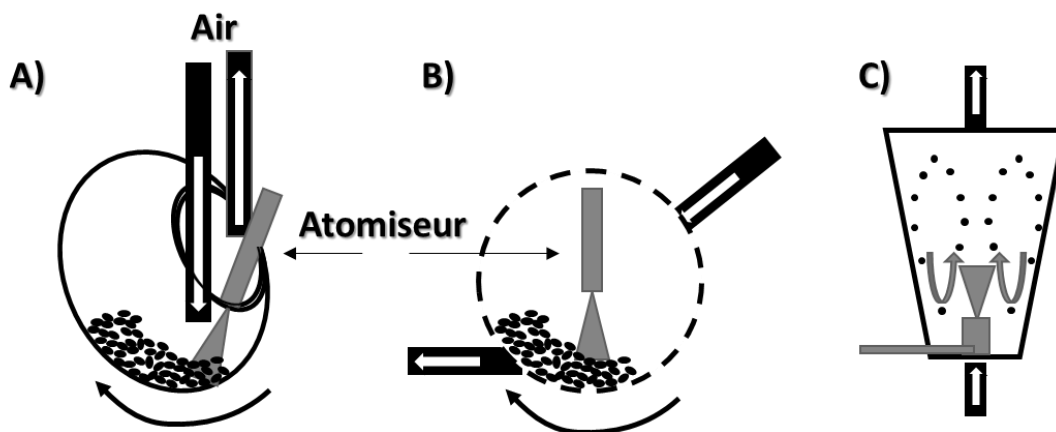
Les enrobages en sucre et par film sont fabriqués avec le même type d'appareillage mais avec des matériaux différents. Leur principe est le même : la solution filmogène est pulvérisée sur des comprimés en mouvement sous un courant d'air chaud.



Un enrobage de sucre est formé de plusieurs couches (polymère, gomme, sucre et cire). Ce type d'enrobage, inspiré des bonbons de confiserie, est utilisé pour masquer le goût des formulations *i.e.* ibuprofène qui est amer.

L'enrobage par film utilise un polymère pour former un film mince. Le procédé de pelliculage peut être divisé en quatre étapes; 1) la pulvérisation (gouttelettes fines); 2) adhésion des gouttelettes aux surfaces; 3) coalescence (unification) des gouttelettes pour former une couche et 4) stabilisation de la couche et séchage pour former un film. Pour l'amidon, la solution filmogène peut être pulvérisée à des intervalles d'environ 30 secondes pour permettre le séchage. En variant la nature du polymère, il est possible de varier la solubilité de l'enrobage et donc le temps de livraison des formulations.

Le point important de ces méthodes est que les comprimés sont en contact pendant un certain temps selon la vitesse de rotation. Si la solution filmogène ne sèche pas rapidement ou si elle est trop collante, les comprimés vont prendre en masse et les enrobages vont décoller. Le talc est utilisé pour réduire l'agglomération. L'appareillage classique est la turbine à pelliculage à tambour rotatif (**fig. 3.2A**). La turbine à lit perforé est une variante où l'air passe à travers le lot des comprimés et à travers le module rotatif (comme un treillis) pour un meilleur séchage (**fig. 3.2B**). Le pelliculage sur lit d'air fluidisé (**fig. 3.2C**) est largement utilisé pour enrober des granules.



**Figure 3.2** Types d'enrobeuses à comprimés (turbines de pelliculage industrielles). A) Enrobeuse à lit rotatif (ELR). B) Enrobeuse à lit perforé (ELP). C) Enrobeuse à lit fluidisé (ELF).

Des paramètres peuvent être ajustés : la température, le débit de la solution filmogène et la vitesse de rotation du cylindre. Autre que l'appareillage, la qualité d'un enrobage dépendra de la viscosité de la solution d'enrobage et de la forme et qualité des comprimés.

L'amidon peut avoir un comportement 'erratique' et les paramètres d'enrobage pourraient être différents de ceux utilisés par exemple avec la cellulose. Le temps et la température de séchage auront un impact important sur la qualité des enrobages.

Finalement, le dernier paramètre à considérer dans le processus est le gain de poids de la formulation (WG). Dans le cas de l'ARA, l'épaisseur des enrobages, principalement caractérisée par le WG du comprimé après enrobage, influence grandement le temps de livraison (voir dans les tableaux 3.1 et 3.2).

### 3.2.2 L'état de l'art

Les enrobages ont surtout été étudiés en associant l'amidon avec d'autres matériaux (**tableau 3.1**). La cellulose modifiée est largement utilisée en industrie pharmaceutique et permet d'accélérer le séchage des films. Surelease® (éthylcellulose, EC), est un exemple de cellulose modifiée adaptée pour l'enrobage. En plus d'accélérer le séchage, la cellulose réduit la solubilité du film et n'est pas susceptible à l' $\alpha$ -amylase. Dans les formulations ciblant le côlon, l'amidon doit se désintégrer rapidement rendu à destination. L'EC, insoluble, permet de ralentir la vitesse de désintégration. Autrement, l'alcool polyvinylique (PVA) et le polyéthylène glycol (PEG) ont aussi été utilisés avec l'amidon (**tableau 3.1**).

L'amidon comme enrobage de comprimé n'est pas très étudié pour les formulations à dissolution rapide. L'avantage de l'amidon se situe dans sa susceptibilité à l' $\alpha$ -amylase et est donc intéressant pour cibler le côlon. Lycoat® est déjà connu pour les enrobages à dissolution rapide.

Eurylon®6 HP-PG est un ARA hydroxypropylé (HP) et pré-gélatinisé (PG), soluble en eau froide (en anglais : *cold water soluble*, CWS). Il est utilisé pour préparer des solutions d'enrobage qui ne nécessitent pas de chauffage (Karrout *et al.*, 2010a). Les températures d'enrobages se situent entre 45 et 70 °C, le débit d'atomisation entre 0.3 et 1 mL/min ou 0.5 et 3 g/min (grammes par minute, à l'aide d'une balance). À la fin, les formulations sont séchées de 10 à 60 min, à 35 ou 60 °C.

**Tableau 3.1 Enrobages des formulations par l'amidon en association avec d'autres matériaux**

Matériel	Gélatinisation	Enrobage	Note	Références
Amylose /EC	Chauffé 70°C	ELF. 35 % WG, séchés 1 h à 60 °C		(Cummings <i>et al.</i> , 1996)
Nutrio P-Star 33® 20 %. CAP, TEC, PEG, Eudragit,	Mélange à température pièce	70 °C, 0.3-0.6 mL/min	Ciblé au colon. Craqué. Résiste SGF/SIF 12h	(Milojevic <i>et al.</i> , 1996)
Amylose et Opadry®	Chauffé 70 °C	60 °C, 0.5 g/min, 0.2 Bar. Séchés 1 h 60 °C.	60 % de libération après 12 h	(Basit <i>et al.</i> , 2004)
AM:EC-1:3 Dibutyl sébacate	Dans l'éthanol	ELF. 45 °C, 1 g/min, 0.2 Bar. 2-6 %WG.	Libération lente de mesalazine. Résiste au moins 12 h.	(Wilson et Basit, 2005)
Amylose et Surelease®	Amylose-butanol	60 °C, 1 mL/min. 4-20 %WG, séchés 60 °C à 1 h.		(McConnell <i>et al.</i> , 2007)
Eurylon VII®, Eudragit®, TEC	Eau-éthanol	ELF	Désint. <i>in vivo</i> : 5 h. Temps de résidence gastrique : 37 min.	(Ibekwe <i>et al.</i> , 2008)
Amylose:EC, 1:3 (Surelease®)	Mélangés à 70 °C	60 °C; 0.5 g/min. 20 % WG, séchés 1 h à 60 °C.	Enrobage de granules. Désintégration à 5 h	(Basit <i>et al.</i> , 2009)
Hylon®V et VII, /EC	Chauffé 80 °C 30 min (dibutyl sébacate)	Entrée 60 °C, sortie 40-45 °C 0.7 mL/min. Air 2-4 m/s 2.2 Bar	ELF. Libération lente pendant 8 h	(Freire <i>et al.</i> , 2009)
Hylon® VII /EC			ELF. Libération lente sur 12h. Granules enrobées	(Freire <i>et al.</i> , 2010)
Eurylon 6 HP-PG® /EC Granules	À froid (prégélatinisé)	39 °C. 1.5-3 g/min. 1.2 Bar. Séchés 10 min	5, 10, 15 et 20 % WG Libération 2, 6, 8 ou 12 h	(Karrout <i>et al.</i> , 2010a)
Nutriose, Lycoat® / EC	TEC. À froid.		Modulable 3 h, 8 h ou >12 h	(Karrout <i>et al.</i> , 2010b)
Pea starch (Roquette) / EC	À froid		Libération seulement en présence de flore colonique	(Karrout <i>et al.</i> , 2011)
ARA, Gelose 50, amidon de maïs	Propylène glycole	45 °C, 0.7 mL/min; Atomisation 0.15 MPa; Séchés 35 °C	Microparticules 5-30 %WG	(Situ <i>et al.</i> , 2014)

**WG : gain de poids. ELF : enrobeuse à lit fluidisé (*fluidized bed coater*). TEC : triéthylcitrate. CAP : cellulose acétate phthalate.**

Comme Eurylon®6 HP-PG est soluble en eau froide, il ne montre pas une bonne résistance à la dissolution et nécessite l'EC. En remplaçant Eurylon par l'amidon de pois hydroxypropylé et hydrolysé dans la formulation avec EC, il était toujours possible d'obtenir un enrobage entérique. Les ARA solubles en eau froide seraient donc trop solubles pour offrir une protection gastrique; un ARA qui nécessite du chauffage pour se solubiliser montrerait une solubilité réduite. La nécessité de gélatiniser l'amidon semble aussi avoir un impact sur sa solubilité au final. En utilisant un amidon soluble, il faudra ajouter l'éthylcellulose pour réduire la solubilité.

Il est intéressant de noter que plusieurs auteurs ont déposé des demandes de brevets (section suivante). Il est aussi intéressant de constater qu'il y a beaucoup plus de publications sur l'amidon comme enrobage de fruit que pour l'enrobage des comprimés.

L'enrobage de comprimé avec l'amidon et un plastifiant (aucun autre polymère) est moins commun (**tableau 3.2**). Il y a peu d'exemples mais il peut être intéressant de considérer que l'amidon est souvent utilisé pour enrober des nanoparticules, entre autres pour la livraison des médicaments (Saikia *et al.*, 2015; Situ *et al.*, 2014).

**Tableau 3.2 Enrobages pharmaceutiques ayant l'amidon comme seul polymère**

Matériel	Gélatinisation	Enrobage	Dissolution	Référence
Hylon VII®, amidons de maïs cireux et régulier	1-3 %, 3 bar, 160 °C. +20 % glycérol ou sorbitol	ELF. 70 °C, 0.8 bar, 3 g/min, 75 m <sup>3</sup> /h	1 % WG : 1 h 2 % WG HAS: 2 h 3 % WG HAS: 5 h	(Palviainen <i>et al.</i> , 2001)
ARA, sorbitol:glycérol 1:1 à 33, 66 et 100 % du polymère	4% Hylon VII® chauffé 160 °C, 4bar. Gardé à 95°C	45, 55, 70°C 1.5, 9, 13,5 g/min, 300 kPa, 7 rpm. Air 20L/s	Libération rapide (15 min) avec 1.9 % WG (théophylline)	(Krogars <i>et al.</i> , 2002a)
Acétate d'ARA Enrobage de granules	Mélange avec acétone et triacétine 6 h	40 °C, 0.8 mL/min, séchés 10 min	EFL. Libère 12 % dans SGF. Après 40 h, 70 % dans SIF.	(Pu <i>et al.</i> , 2011)

Plusieurs brevets utilisent l'association amidon-cellulose pour moduler le temps de désintégration. Tout comme pour les articles des journaux, l'intérêt est surtout pour les enrobages à base d'ARA. D'ailleurs, les brevets d'enrobages à base d'amidon visent souvent différentes applications de revêtement (*i.e.* formulations orales, aliments, produits non périssables, emballages et matériaux).

Deux exemples de procédés d'enrobage sont détaillés ci-bas.

Exemple 1. L'acétate d'amidon (15 %w/w) a été mélangé avec l'éthylcellulose (1:1) et avec un plastifiant, le triéthylcitrate (TEC), 30 % de la masse des polymères (Siepmann *et al.*, 2010). L'amidon hydrolysé (5 %w/w) est ajouté et le mélange est agité 6 h avant utilisation. La solution filmogène a été utilisée pour revêtir des granules dans une enrobeuse à lit d'air fluidisé (ELF).

Les paramètres de l'enrobeuse étaient : température à l'entrée 39 °C, débit de pulvérisation 1.5-3 g/min, pression de pulvérisation 1.2 bar avec un embout de diamètre 1.2 mm. Les granules ont été séchées 10 min dans l'enrobeuse (*curing*) puis 24 h à 60 °C. Un gain de masse totale de 20 % a été obtenu.

**Tableau 3.3 Brevets sur l'utilisation de l'amidon pour enrober des formulations**

Référence	Déposant	Observations
(Co, 1954)	Upjohn Co <sup>1</sup>	Phthalate acétate d'amidon. Insoluble à pH 1.2 et soluble à pH 6.8.
(Small et Jeffries, 1971)	Dow Chemical Co	Amidon pré-gélatinisé avec amidon hydrolysé ( <i>high corn syrup</i> )
(Signorino, 1991)	Warner-Jenkinson Co Inc	Purity Gum®59
(Newton et Leong, 1997)	Alizyme Therapeutics Ltd	Complexe amylose-butanol comme enrobage ciblant le côlon
(Becker <i>et al.</i> , 1999)	Danisco US Inc	Différents amidons modifiés formulés avec glycérol
(Gulian <i>et al.</i> , 2002)	McNeil-PPC, INC.	Pure-Cote®, PurityGum®, FilmSet®
(Krogars <i>et al.</i> , 2002b)	Licentia OY	Hylon VII autoclave 160 °C. Appliqué avec une enrobeuse portable.
(Lefevre <i>et al.</i> , 2003)	Roquette Frères	Acétate d'amidon (45 %AM)
(Haeusler <i>et al.</i> , 2003)	Roquette Frères	Formulation ciblée au côlon. Eurylon®, Glucidex®, Lycoat® 1 :4 avec EC
(Charles et L., 2005)	Emerson Resources, Inc.	Amidon lyophilisé et Shellac
(Podczek et Freire Teixeira de Almeida Lopes, 2008)	University of Sunderland	Hylon VII® avec Surelease®
(Siepmann <i>et al.</i> , 2010)	Roquette Frères	Enrobage d'acétate d'amidon pour la livraison au colon (1:4 avec EC). Eurylon 6 ou 7 et Aquacoat®
(Giovannone et De Angelis, 2012)	Gnosis SPA	Shellac et glycolate d'amidon sodique
(Parissaux <i>et al.</i> , 2014)	Roquette Frères	Hydroxypropyl amidon
(Yang <i>et al.</i> , 2016a)	FMC Corporation	Enrobage entérique d'alginate et amidon. Meilleure formulation : viscosité 100-500 cps à 10 % concentration

<sup>1</sup>(acheté par Pharmacia, ensuite par Pfizer, puis Monsanto, puis Bayer)

Exemple 2. Hylon VII® a été utilisé (Krogars *et al.*, 2002b). Une petite enrobeuse de laboratoire à tambour perforé a été chargée de 1 kg de comprimés. Les paramètres étaient : pression de pulvérisation de 300 kPa, tambour à 50 °C, 7 rpm. Après le revêtement, les comprimés ont été séchés 5 min à 50 °C dans l'appareil et équilibrés à 60 % d'humidité relative, 25 °C, 24 h. La dissolution des comprimés enrobés était plus lente lorsque des températures plus élevées ont été utilisées. Si une température basse est utilisée

avec un grand débit, la dissolution est rapide mais le processus devient difficile. Une température au-dessus de 70 °C n'était pas adéquate. L'aspect des comprimés était passable en utilisant un débit de 2.5 g/min et de meilleure qualité avec un débit entre 2.5 et 4 g/min.

### 3.2.3 Technologies pour générer des matériaux d'amidons filmogènes et de revêtement

Le seul produit commercial d'amidon pour l'enrobage des comprimés est Lycoat® (Roquette et frères). C'est un amidon hydrolysé à haute solubilité. Dû à cette solubilité, les enrobages sont rapidement solubilisés. Lycoat® sert pour les formulations à dissolution rapide. Les études récentes utilisent Eurylon 6® HP-PG et Nutriose® de Ingredion, la plupart du temps avec la cellulose modifiée Surelease®.

Comme plusieurs publications utilisent des amidons de grades alimentaires, une liste à jour des producteurs d'amidons modifiés a été dressée avec quelques exemples (**tableau 3.4**). Ces amidons pourraient être utilisés pour formuler des solutions filmogènes générant des films solubles.

Plusieurs amidons modifiés ont donc le potentiel pour être utilisés comme enrobage à dissolution rapide. Pour l'enrobage des formulations ciblées au côlon, le ratio amylose:amylopectine est le paramètre important pour réduire la solubilité, donc, l'ARA doit être utilisé. Eurylon 6® HP-PG est un ARA hydroxypropylé et pré-gélatinisé, prêt à l'emploi, mais semble être un peu trop soluble. Pour cela, il a été associé à l'acétate de cellulose Surelease®. Il reste encore des études à faire sur les dérivés ARA pour éviter d'utiliser d'autres matériaux en association avec l'amidon.

Dernièrement, plusieurs marques ont été acquises par Ingredion. La compagnie emploie maintenant plus de 11 000 personnes à travers le monde. En parallèle, American Maize Products Co (1908) est acheté par CereStar en 1995 puis par Cargill en 2002.

Des technologies brevetées sont aussi le résultat de l'association d'un amidon modifié avec un autre matériaux, par exemple Mater-Bi® (Novamont S.p.A., Novara, Italie). Mater-Bi® est un composite biodégradable à base d'amidon thermoplastique et de polyesters. Il a été utilisé pour enrober des comprimés par extrusion (Aldas *et al.*, 2020). Les composites d'amidon thermoplastiques sont donc intéressants comme matériaux filmogènes.

Cerestech Inc., fondé en 2001, est une compagnie basée à Montréal, issue d'un 'spin-off' de l'École polytechnique de Montréal. En 2009, ils lancent plusieurs grades de composites biodégradables à base d'amidon et de polyoléfines sous la marque Cereloy®. L'amidon thermoplastique est obtenu par extrusion avec du glycérol. Les propriétés thermoplastiques des composites sont excellentes et permettent de réduire l'empreinte carbone tout en diminuant les coûts. Ils ont accordé la licence de production mondiale à Teknor Apex (É.-U., 1924), des producteurs de plastique.

**Tableau 3.4 Exemples d'amidons modifiés disponibles commercialement**

Technologie	Producteurs	Description	Grade
Eurylon 6® HP-PG PurityGum®	Ingredion	ARA modifié Amidon hydrolysé	A A
C*Gel™ EmCap®/EmTex® PolarTex®/HiForm® C*DrySet®	Cargill (Amérique)	Amidon de maïs Octenylsuccinylé Hydroxypropylé (HP) Dextrines	A A A A
Clearam® Pregeflo® Cleargum® Lycoat® Glycolys®	Roquette frères (Europe)	E1420, E1422 E1414, E1412 E1420, E1450 Amidon de pois hydrolysé-HP Glycolate d'amidon sodique	A A A P AP
Vivastar®	Colorcon (É.-U.)	Glycolate d'amidon sodique	P
Explotab®	JRS Pharma	Glycolate d'amidon sodique	P
Primojel®	DFE Pharma	Glycolate d'amidon sodique	P
Blowtab®	Patel Chem Sp. Pvt Ltd	Glycolate d'amidon sodique	P
Mira-Cap®	Tate & Lyle		A
Casstex®	Thai Wah	Amidon de tapioca modifié	A
Bioplast®	Biotec (Allemagne)	Thermoplastique (p. d. t.)	AE
Puris®	Puris	Amidon de pois PG	A
Solvarin® Cationamide® Oxamyl®, Acetamyl®	Škrobárny Pelhřimov (Tchéc.)	Tous les grades alimentaires d'amidon de p. d. t. modifié	A
Kreation®, Genigel®, Verity®, Crispytec®, Emultec®	SMS Corp. Co., Ltd (Thaïlande)	Tous les grades alimentaires d'amidon modifié	A

**A : alimentaire, E : emballage, P : pharmaceutique. P. d. t. : pomme de terre. HP : hydroxypropylé.**

L'ajout d'amidon dans des composés de polyoléfines pour rendre les matériaux biodégradables est une idée qui a été brevetée (Griffin, 1976). Toutefois, il fut noté que la désintégration des produits ne signifiait

pas que les polyoléfines étaient biodégradées (Glenn *et al.*, 2014; Koenig et Huang, 1995). C'est pourquoi des polymères biodégradables synthétiques sont utilisés, comme le polycaprolactone.

Les enrobages pour les fruits peuvent aussi se rapprocher des enrobages pour comprimés. Le principe est le même, les deux sont comestibles, les propriétés et effets recherchés sont semblables. Plusieurs brevets utilisant l'amidon pour l'enrobage des fruits ont été déposés par des producteurs d'amidon (*i.e.* Tate & Lyle, Cerestar).

### 3.3 Caractéristiques des comprimés enrobés

#### 3.3.1 Caractérisation physico-chimique des enrobages

Les enrobages pour comprimés sont surtout utilisés pour faciliter l'avalement tout en masquant le goût des excipients. Ultiment, un enrobage est utilisé pour améliorer la qualité de l'expérience sensorielle des patients qui doivent consommer des médicaments à administration orale. Ainsi, une partie importante de la caractérisation se situe dans la qualification d'analyses sensorielles. La surface est caractérisée par sa couleur, sa rugosité, son uniformité et homogénéité (absence de craques). Pour être facile à avaler, le film ne doit pas être collant ou rugueux. Ces aspects sont déterminés par des tests sensoriels. La qualité de l'adhésion du film au noyau est observée par l'homogénéité de l'enrobage dans le temps ou en fonction de l'humidité. En particulier, les formes et les textures des noyaux monolithiques (*i.e.* ovale, logo, écriture) sont plus difficiles à revêtir qu'une surface plane. Si l'adhésion est mauvaise, la pellicule de film se détachera.

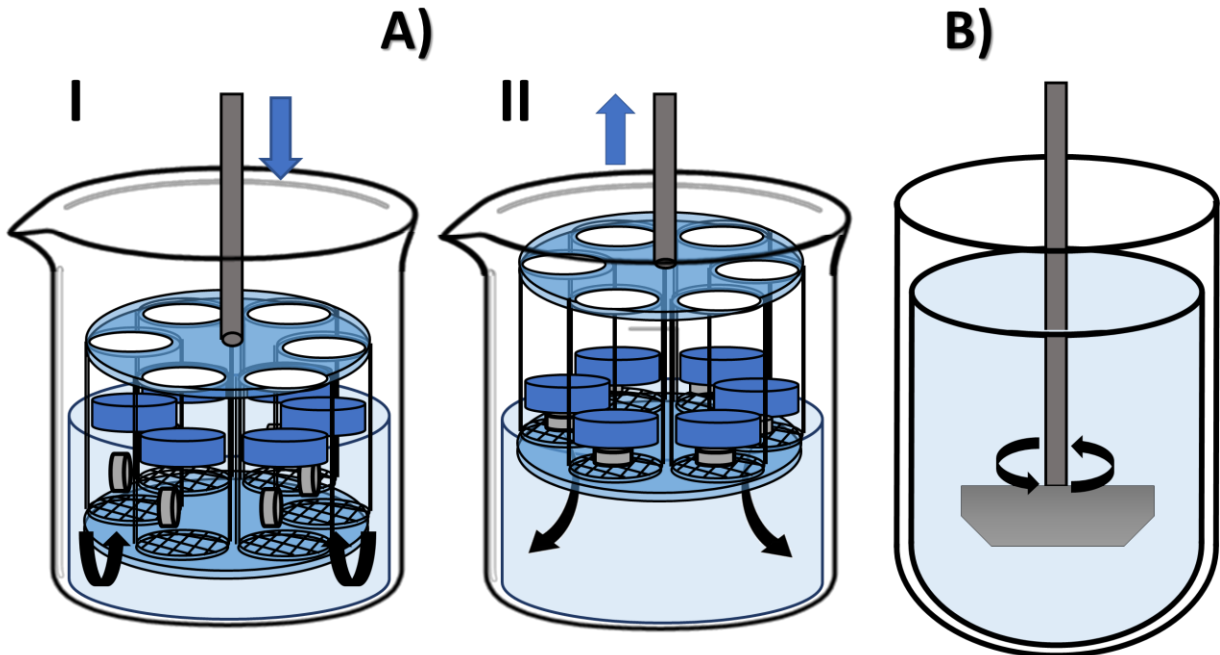
L'épaisseur du film d'enrobage influencera le temps nécessaire à sa dissolution. Du point de vue technique, l'épaisseur est estimée en fonction du gain de poids des comprimés (WG, en pourcentage). Des formulations ayant des revêtements de différents poids sont ensuite analysées pour mesurer l'impact sur le temps de dissolution.

#### 3.3.2 Simulation du tractus gastro-intestinal (TGI)

Les formulations orales sont caractérisées principalement par la simulation *in vitro* de leur transit dans le TGI. Essentiellement, les formulations sont plongées dans des solutions tampon standardisées simulant la composition du fluide gastrique à pH 1.2 (SGF) et du fluide intestinal à pH 6.8 (SIF). Les solutions, appareils et tests standards se trouvent dans les différentes pharmacopées (*i.e.* des É.-U., européenne). Dans la Pharmacopée des États-Unis (USP), il existe plusieurs appareils standards mais particulièrement les



appareils de dissolution USP#1 (bain désintégrant) et USP#2 (bain à dissolution) sont très utilisés. Ils permettent de régler la vitesse d'agitation et la température de plusieurs stations de test.



**Figure 3.3** Des appareils de dissolution. Le bain désintégrant (USP <701>) permet de mesurer le temps de désintégration des comprimés (A). Il est muni de paniers mus par un bras mécanique. Le panier est conçu de plusieurs tubes vides dont le fond est un treillis qui laisse passer l'eau. Les comprimés sont placés sur les treillis, recouverts d'un disque de plastique flottant et submergés (I). Le panier est activé dans un mouvement de haut en bas, amenant les disques à toucher doucement les comprimés contre le treillis (II) puis les séparant à nouveau pour simuler le mouvement péristaltique du système digestif. Le bain à dissolution (B) sert à suivre la libération des agents actifs (par exemple par prélèvement d'un aliquot du tampon) en fonction du temps.

Pour simuler le transit dans le TGI, les pharmacopées recommandent des temps précis pour submerger les formulations. Le transit gastrique est simulé en submergeant les formulations dans le SGF contenant de la pepsine, pendant 2 h à 37 °C. Le transit intestinal est simulé en les submergeant au moins 8 h dans le SIF contenant des enzymes pancréatiques, à 37 °C. Il est toutefois connu que le temps de transit peut varier selon le type de formulation, la présence de nourriture et les habitudes de vie du sujet (*i.e.* un transit gastrique de 45 min).

La mesure du temps de désintégration se fait à l'aide du bain désintégrant (fig. 3.3A). Les formulations sont placées dans des cylindres. Les cylindres vont descendre dans l'eau et ressortir continuellement, ce qui amène la formulation en contact avec le fluide, à répétition. Ce dispositif permet de mimer le

péristaltisme et les contacts physiques durant le transit. Le test se fait aussi dans SGF/SIF, à 37 °C. Particulièrement, les gels sont plus sensibles à cette méthode qu'au test de dissolution.

Dans le test standard de dissolution (fig. 3.3B), la formulation est submergée dans 900 mL de tampon et agitée à 100 rpm par une hélice. Il est ensuite possible de suivre la libération des ingrédients actifs dans le temps. Cette méthode sans contact tient compte de la diffusion (ou de l'érosion) seulement. La plupart des médicaments peuvent être détectés par spectrophotométrie. Pour les enrobages des comprimés, le test de dissolution peut être utilisé avec divers objectifs. Il permet de quantifier le temps de livraison et la diffusion de l'ingrédient actif à travers l'enrobage pour comparer par exemple l'impact du poids d'enrobage sur la protection gastrique.

Ces deux méthodes sont accessibles, abordables et reproductibles. Elles permettent d'estimer le comportement des formulations lors du transit dans le TGI mais ne tiennent pas compte de la variabilité observée chez les humains. Les études *in vivo* donneront les paramètres réels de libération d'agents actifs ou de temps de désintégration. Pour les médicaments qui sont absorbés, la libération peut être suivie par pharmacocinétique (concentration dans le sang ou l'urine). Pour les formulations à action locale (*i.e.* enzymes thérapeutiques qui vont agir dans l'intestin), le temps de désintégration des comprimés peut être suivi par des techniques d'imagerie (*i.e.* scintigraphie, rayons X).

## CHAPITRE 4

### LE PROJET DE RECHERCHE

#### 4.1 Le carboxyméthyl amidon riche en amylose (CMARA) comme matériau filmogène

Le carboxyméthyl amidon riche en amylose (CMARA) est relativement peu connu. Il est utilisé en formulation comme matrice monolithique (offrant une protection gastrique) pour la livraison des médicaments et agents bioactifs (*e.g.* enzyme thérapeutiques) à l'intestin grêle ou au côlon (revue au chapitre 1). Le CMARA a été peu étudié comme matériau filmogène et pas du tout comme enrobage entérique. Cependant, plusieurs amidons modifiés sont connus pour leurs propriétés filmogènes (vues au chapitre 2). En tant que matériaux d'enrobage pour des comprimés, plusieurs amidons natifs ou de grades alimentaires ont été étudiés (chapitre 3).

Le présent projet de doctorat est une continuation aux travaux de maîtrise sur le CMARA comme excipient pour des matrices monolithiques (comprimés) à administration orale pour la libération contrôlée de médicaments (fig. 4.1). Présentement, les matériaux utilisés comme revêtement entérique sont surtout synthétiques (*e.g.* les dérivés de phtalates et les méthacrylates). Le CMARA, à base des sources naturelles, pourrait être utilisé comme enrobage entérique pour les formulations à libération ciblée à l'intestin.

L'enrobage des différentes formulations pharmaceutiques représente une étape importante dans la fabrication de médicaments. Le projet de thèse aborde le CMARA comme nouveau matériau d'enrobage.

Pour obtenir le CMARA, Hylon VII® (Ingredion), un ARA, a été utilisé comme produit de départ. Il contient 70 % amylose et est peu soluble. Le Hylon VII® non-modifié est difficilement filmogène et rétrograde beaucoup, ce qui forme des craques. L'hypothèse est que sur le CMARA, les groupes carboxyles pourraient améliorer les propriétés filmogènes en diminuant la rétrogradation (encombrement stérique) et en augmentant la solubilité (caractère ionique). Des formulations avec du CMARA ont commencé à être réalisées depuis plus d'une décennie (Calinescu *et al.*, 2005) et continuées durant le projet de maîtrise (Labelle *et al.*, 2019), montrant, suite à une étude *in vitro* et *in vivo* un comportement adéquat comme excipient.

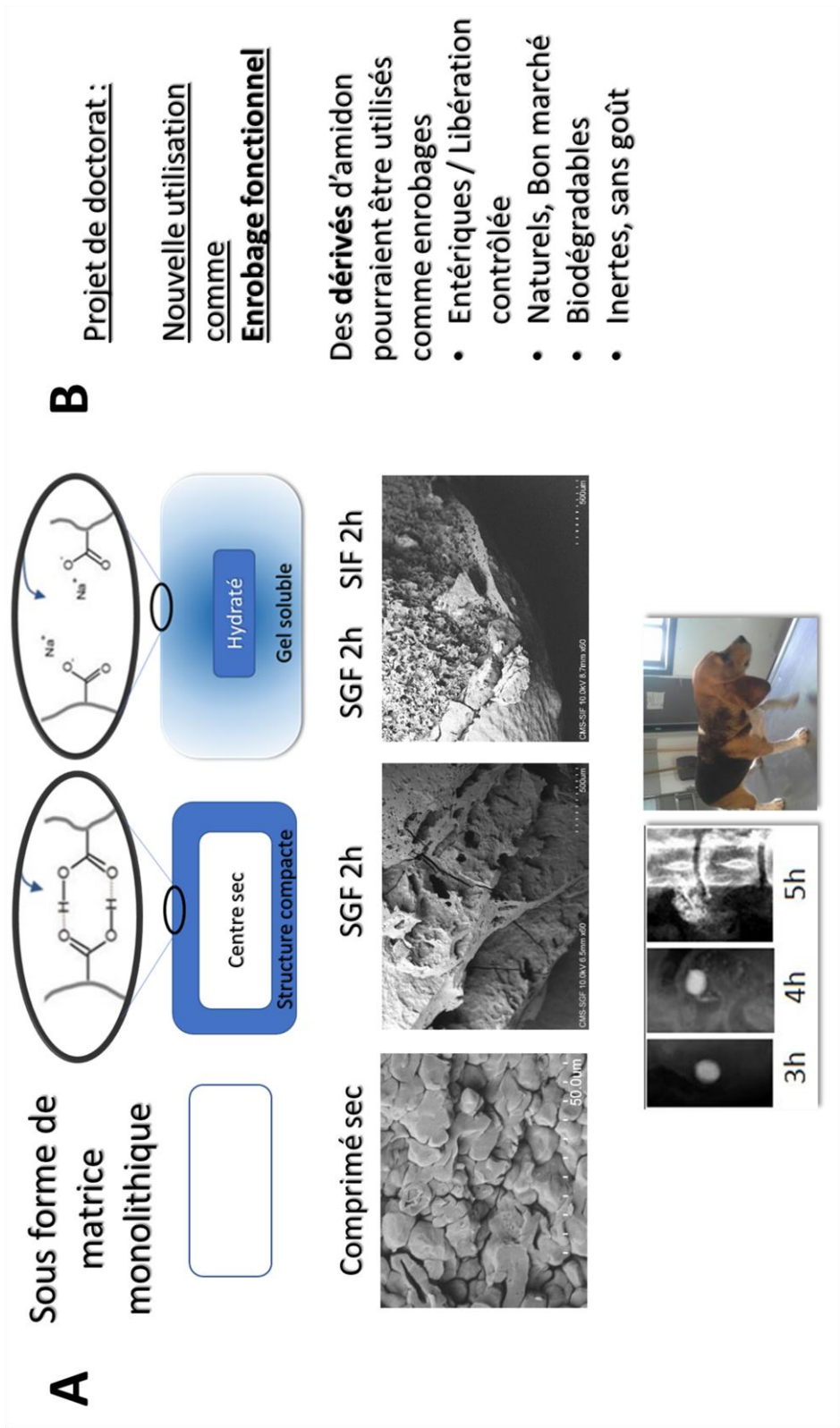


Figure 4.1 Résumé graphique du projet de maîtrise (A) 2016-2018 (Labelle, 2018) et continuation au projet de doctorat (B).

#### 4.1.1 Hypothèses de travail pour le projet de doctorat :

- Le CMARA comme enrobage pourrait, par la protonation des groupes CM-, minimiser la solubilité en milieu gastrique et prévenir la libération précoce des médicaments.
- Un CMARA de faible degré de substitution (DS) pourrait former des films peu solubles.
- Des paramètres structuraux pourraient être obtenus par TGA, DRX, FTIR et corrélés à la solubilité des poudres, comprimés et films.
- La solubilité des matériaux sous forme de comprimé pourrait être reliée à celle des films et servir d'évaluation préliminaire pour estimer leur solubilité comme enrobage.

#### 4.1.2 Objectif de recherche

Étudier le CMARA comme matériau pouvant former des films peu solubles et des enrobages entériques pour les comprimés.

#### 4.1.3 Approches méthodologiques

##### 4.1.3.1 Modification de l'amidon

Les étapes sont résumées à la figure 4.2. Différents dérivés ont été synthétisés et en plus des fonctions anioniques carboxyméthyl (CM-), d'autres fonctionnalisations ont été réalisées : la réticulation avec le trimétaphosphate de sodium, en anglais, *cross-linked* (-CL); les groupes cationiques aminoéthyl (AE-) et triméthylammonium (TMA).

Selon les publications précédentes du Laboratoire à l'UQAM, les modifications ont été effectuées après gélatinisation alcaline aqueuse : le CMARA (Calinescu *et al.*, 2005), le CMARA-CL (Mulhbacher *et al.*, 2001), le AECMARA (Sakeer *et al.*, 2018) et le TMACMARA (Benyerbah *et al.*, 2019). Ces synthèses utilisent toutes un rapport eau:amidon de 60:1. La méthode 'pâte' ou en anglais : '*slurry*', consiste à réduire la quantité d'eau à un ratio 50:1, et a été utilisée pour un autre synthèse de CMARA-CL (Lenaerts *et al.*, 1998; Massicotte *et al.*, 2008). Les dérivés obtenus dans ce projet de thèse ont été caractérisés comme décrit dans ces mêmes références, par FTIR, DRX, TGA et DS. Additionnellement, les poudres d'amidons modifiés ont été analysées par leur viscosité en solution et par le test d'iode (Nwokocha et Ogunmola, 2014). Le test d'iode, souvent nommé '*blue value*', mesure la capacité de l'amylose et de l'amylopectine à former des hélices pour complexer l'iode et indique le degré d'altération de la structure.

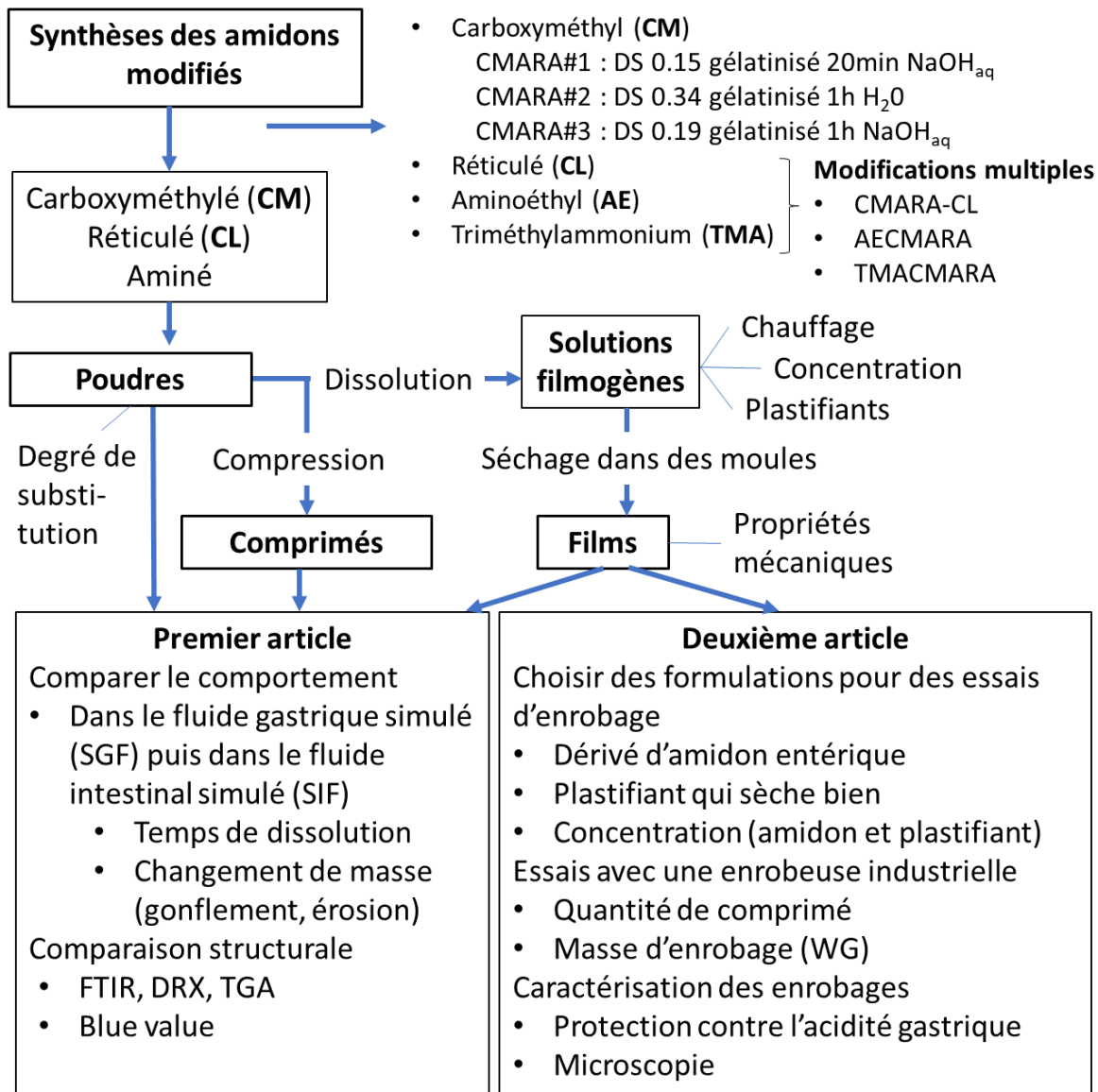


Figure 4.2 Schéma organisationnel de l'étude sur les poudres, films et comprimés.

**Tableau 4.1 Paramètres de modification de l'amidon**

Type de modif.	Physique		Réactifs (g de réactif/100g amidon)			Nom du dérivé	DS <sub>titr</sub>	Ref.
Type d'amidon	Ratio (Amidon: Eau: NaOH)	Gélatinisation	Réticulé avec STMP	Ajout de fonctions ioniques				
				Anioniques avec SMCA	Cationiques			
ARA	NaOH aqueux (1:60:1)	20 min NaOH aqueux	20g	-	-	HAS-CL20	0.00	-
			-	50g	-	CMHAS#1	0.15	(Massicotte <i>et al.</i> , 2008)
		60 min H <sub>2</sub> O, bouilli	-	100g	-	CMHAS#2	0.34	-
		60 min NaOH aqueux	-	50g	-	CMHAS#3	0.19	-
			10g	75g	GTMAC 97.6mL	TMACMHAS- CL10	0.35	-
	-	75g	CEA 75g	AECMHAS	0.22	(Sakeer <i>et al.</i> , 2018)		
	NaOH aqueux (1:50:1) 'Slurry'	20 min NaOH aqueux	10g	50g	-	CMHAS-CL10 #2	0.19	-
Mais	NaOH aqueux (1:60:1)			50g	-	CMCS	0.15	(Massicotte <i>et al.</i> , 2008)
Pomme de terre			10g	50g	-	CMPS-CL10	0.22	-

#### 4.1.3.2 Obtention et caractérisation des films d'amidon

Les films ont été obtenus par évaporation d'une solution filmogène.

**Préparation** : les films ont été coulés dans des moules hexagonaux en polystyrène (évaporation des compositions filmogènes) à conditions ambiantes. Les préparations ont été réalisées avec 3,5 % p/p de dérivés d'amidon en milieu aqueux, sans plastifiants.

Ils ont été caractérisés avec et sans plastifiant par FTIR, TGA et DRX. Le point principal était de caractériser le comportement des films (insolubles, forment un gel ou se solubilisent) dans les fluides simulés (SGF, SIF). Pour mesurer le gonflement et l'érosion, leur poids a été suivi pendant immersion 2 h dans SGF et ensuite 2 h dans SIF, avec et sans  $\alpha$ -amylase. Afin de montrer l'importance de la haute teneur en amylose, des dérivés d'amidon riche en amylopectine (maïs et pomme de terre) ont été synthétisés et comparés.

#### 4.1.3.3 Enrobage des comprimés au Laboratoire à l'UQAM

Des comprimés monolithiques ont été fabriqués au Laboratoire à l'UQAM et ont été utilisés comme noyaux. Pour bien voir l'effet protecteur de l'enrobage, c'était nécessaire d'utiliser un noyau à dissolution rapide. Des noyaux à dissolution rapide contenant un traceur ont été obtenus en utilisant les matériaux et ratios suivant : l'acétaminophène comme traceur (60%), l'hydroxypropylméthylcellulose grade K100 comme matrice (10%), le lactose, soluble (15%) et la cellulose microcristalline comme remplissage (15%). Les ingrédients ont été broyés ensemble puis comprimés (300 ou 500mg) dans des moules cylindriques à l'aide d'une presse hydraulique à 2 tonnes pendant 10s. Le temps de dissolution du noyau témoin était environ 15 minutes.

Pour former l'enrobage, la solution filmogène a été appliquée sur les comprimés (un par un) et séchée à l'air tiède (40-60°C). Différentes méthodes ont été explorées : vaporisation, dépôt d'une goutte à l'aide d'une pipette, chauffage de la solution. Les temps de dissolution et la libération d'acétaminophène des noyaux monolithiques (comprimés) enrobés ont été comparés avec ceux des noyaux avant l'enrobage.

#### 4.2 La détermination du degré de substitution du CMARA par FTIR

Le degré de substitution (DS) est un paramètre important pour les matériaux carboxylés. Pour l'amidon, il augmente la solubilité et le caractère ionique. Il réduit aussi la rétrogradation en empêchant la formation de double-hélices.

Le DS est surtout mesuré par titrage inverse *i.e.* par dissolution du CMS protoné (H-CMS) dans le NaOH suivi d'un titrage avec HCl. L'utilisation du NaOH aqueux permet une bonne solubilisation de l'amidon. Cette méthode est rapportée comme la plus précise des méthodes de titration (Stojanović *et al.*, 2005). Le titrage direct du Na-CMS se fait dans l'eau et ne permet pas une bonne solubilisation, donnant un DS plus bas que le titrage inverse. Le titrage par précipitation du cuivre laisse place à la possibilité d'erreur humaine (indentification du point de virage difficile) et la possibilité de coprécipitation (2 carboxyles pour 1 cuivre).

Pour effectuer le titrage inverse, le CMARA doit être protoné (HCl 2M, 30 min). Ensuite il doit être rincé jusqu'à une conductivité de 50  $\mu$ S, ce qui peut nécessiter jusqu'à six lavages et plus. Finalement, il doit être délicatement séché pour obtenir une poudre fine (*i.e.* trois lavages au méthanol puis à l'acétone), étapes qui peuvent prendre plus d'une journée (le procédé est long).



Comme la détermination du DS nécessitait beaucoup de temps et de matériaux, il fut proposé que le DS pourrait être déterminé plus simplement par FTIR.

#### 4.2.1 Hypothèses de travail

- En FTIR, la bande du carboxylate pourrait varier proportionnellement au DS et permettre d'établir une courbe standard (fig. B.5) en vue d'évaluer le DS.
- Pour les amidons avec plusieurs modifications, cette méthode permettrait de mieux quantifier le DS de l'amidon par des groupes CM, par rapport à ceux obtenus par titration (surtout en présence de groupements amino).

#### 4.2.2 Objectifs de recherche

Étudier la corrélation entre l'intensité des bandes FTIR du CMHAS et le DS obtenu par titration.

#### 4.2.3 Approche expérimentale

La bande du carboxylate, à  $1590\text{ cm}^{-1}$ , semblait varier proportionnellement au DS. En FTIR, l'intensité des bandes peut varier d'un échantillon à l'autre, particulièrement avec l'accessoire de réflectance totale interne atténuée (ATR) et surtout pour l'amidon qui adopte toutes sortes d'organisations. Il était donc important de déterminer une bande de référence pour obtenir un ratio (*i.e.*  $1590\text{ cm}^{-1}/2887\text{ cm}^{-1}$ ). Différentes bandes ont été sélectionnées pour comparer leur corrélation avec le DS obtenu par titration des mêmes échantillons après protonation et le ratio  $1590\text{ cm}^{-1}/2887\text{ cm}^{-1}$  a été retenu entre autres.

Les correctifs de ligne de base appliqués aux spectres IR peuvent influencer les intensités et les ratios. La corrélation ratio-DS a été comparée avant et après correction de la ligne de base et déconvolution avec deux méthodes différentes. Cette méthode a été utilisée pour déterminer le DS de deux amidons ampholytiques (double et triple modifications).

Cette approche permettrait d'obtenir le DS sans générer de perte de produit et avec un appareil accessible, le spectromètre FTIR. Cette méthode serait plus simple que celle rapportée par Liu *et al.* (2012) utilisant la régression partielle des moindres carrés par FTIR (Liu *et al.*, 2012).

## **Partie II - section expérimentale**

## CHAPITRE 5

### DÉRIVÉS ANIONIQUES ET AMPHOLYTIQUES D'AMIDON RICHE EN AMYLOSE COMME EXCIPIENTS POUR DES APPLICATIONS PHARMACEUTIQUES ET BIOMÉDICALES : CORRÉLATION STRUCTURE-PROPRIÉTÉS

Marc-André Labelle<sup>1</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1</sup>, Salma Tajer<sup>1</sup>, Yong Xiao<sup>2</sup>, Benoît Barbeau<sup>2</sup> et

Mircea Alexandru Mateescu<sup>1</sup>

1. Département de Chimie, Chaire de recherche sur les dysfonctions entériques 'Allerdys', Centre CERMO-FC, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.
2. Département des Sciences Biologiques et Centre CERMO-FC, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.

Contribution de l'auteur principal et des co-auteurs

Marc-André Labelle - Méthodologie, analyses, rédaction

Salma Tajer, Yong Xiao et Benoît Barbeau - Analyses de cytotoxicité

Pompilia Ispas-Szabo - Rédaction, supervision du projet

Mircea Alexandru Mateescu - Supervision du projet et révision du manuscrit

**Publié dans: *Pharmaceutics***

Labelle, M.-A., Ispas-Szabo, P., Tajer, S., Xiao, Y., Barbeau, B. et Mateescu, M. A. (2023). Anionic and Ampholytic High-Amylose Starch Derivatives as Excipients for Pharmaceutical and Biopharmaceutical Applications: Structure-Properties Correlations. *Pharmaceutics*, 15, 834

ANIONIC AND AMPHOLYTIC HIGH-AMYLOSE STARCH DERIVATIVES AS EXCIPIENTS FOR PHARMACEUTICAL AND BIOPHARMACEUTICAL APPLICATIONS: STRUCTURE-PROPERTIES CORRELATIONS

**Marc-André Labelle<sup>1</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1,\*</sup>, Salma Tajer<sup>1</sup>, Yong Xiao<sup>2</sup>, Benoît Barbeau<sup>2</sup> and Mircea Alexandru Mateescu<sup>1</sup>**

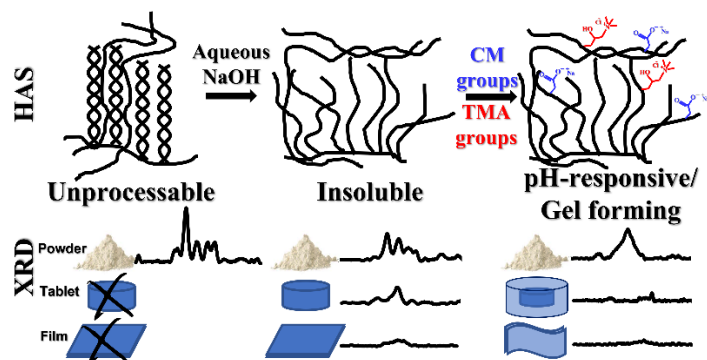
1. Department of Chemistry, Research Chair on Enteric Dysfunctions 'Allerdys', CERMO FC Center, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.
  2. Department of biological sciences & CERMO FC Center, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Suc-cursale Centre-Ville, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.
- \* Correspondence: [ispas-szabo.pompilia@uqam.ca](mailto:ispas-szabo.pompilia@uqam.ca) (PIS) Tel: 1 (514) 987-3000 ext 0318

Abstract

Many chemical modifications of starch are realized in organic (mostly methanol) phase, allowing high degrees of substitution (DS). Some of these materials are used as disintegrants. To expand the usage of starch derivative biopolymers as drug delivery system, various starch derivatives obtained in aqueous phase were evaluated with the aim to identify materials and procedures which would generate multifunctional excipients providing gastro-protection for controlled drug de-livery. Chemical, structural and thermal characteristics of anionic and ampholytic High Amylose Starch (HAS) derivatives under powder (P), tablet (T) and film (F) forms were evaluated by X-ray Diffraction (XRD), Fourier Transformed Infrared (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA) methods and correlated with the behavior of tablets and films in simulated gastric and intestinal media. At low DS, the HAS carboxymethylation (CMHAS) in aqueous phase, generated tablets and films that were insoluble at ambient conditions. The CMHAS filmogenic solutions, with a lower viscosity, were easier to cast and gave smooth films without the use of plasticizer. Correlations were found between structural parameters and the properties of starch excipients. Compared to other starch modification procedures, the aqueous modification of HAS generated tunable multifunctional excipients that may be recommended for tablets and functional coatings for colon-targeted formulations.

Keywords: pH sensitive biopolymers; hydrogels; self-assembly; pharmaceutical excipients; drug delivery systems; functional films; structural analysis

### Graphical abstract



### 5.1 Introduction

Starch is a biopolymer of interest due to its capacity of self-assembly [1]. low cost and biocompatibility, in addition to its susceptibility to be hydrolyzed by salivary and intestinal  $\alpha$ -amylase. Various sources of starch and numerous physical, chemical or enzymatical modifications were proposed to extend its range of applications [2].

Regarding the starch origin, the ratio between the two components (amylose and amylopectin) present in the starch granule will define many of its properties (Jane *et al.*, 1999). Certain soluble starch powders are largely used as tablet disintegrants, binders or fillers. Differently, the high amylose starch (HAS) powder, less popular because it is amorphous, has low solubility and, it is able however to form strong matrices and modulate the drug release (Lenaerts *et al.*, 1998). Also, compared to other starches, the HAS has shown slower hydrolysis by  $\alpha$ -amylase (of either pancreatic or colonic bacteria origin) and is therefore suitable as an excipient for colonic delivery (Ding *et al.*, 2018).

Between chemical modifications that can be operated on the polysaccharidic chains of starch, the cross-linking and the grafting of various functional groups are frequent. Cross-linked high amylose starch (CLHAS-CL) devices loaded with ciprofloxacin have been proposed as an option for long-lasting implants in the treatment of osteomyelitis (Desevaux *et al.*, 2002). Transarterial embolization is a low-invasive treatment of solid tumors. Cross-linked starch microspheres slowly-biodegradable by serum  $\alpha$ -amylase, known as

Degradable Starch Microspheres (DSM) or Spherex<sup>®</sup> have been described as candidates for clinical translation (Sommer *et al.*, 2018b). Other new applications include resorbable stents with shape memory (Beilvert *et al.*, 2014b), bone scaffolds (Flores-Arriaga *et al.*, 2017; Koski *et al.*, 2018), wound dressing materials (Giri Dev et Hemamalini, 2018), tumor targeting (Liu *et al.*, 2015) and molecular probes (Srivastava *et al.*, 2019). For bone tissue engineering, the viability and proliferation of cultured cells were remarkably increased with polyhydroxybutyrate (PHB)-starch scaffolds compared to PHB control samples (Asl *et al.*, 2021).

Grafting of anionic groups (carboxymethyl CM) on starch is usually performed in organic phase to obtain high yields and elevated degree of substitution (DS) (Kittipongpatana et Kittipongpatana, 2015; Mohapatra *et al.*, 2018; Nita *et al.*, 2020; Nordin *et al.*, 2018; Olusola *et al.*, 2016; Wilpiszewska *et al.*, 2015). Sodium starch glycolate is a commercial carboxymethyl potato starch with superdisintegrant properties (Paul J. Sheskey *et al.*, 2009). Contrarily, when the carboxymethylation of HAS is done in aqueous phase it generates excipient materials with different properties, allowing a tunable drug release delay. The swelling and drug release rates from CMHAS tablets based on powders obtained via an aqueous procedure may be adjusted by varying the DS, the protonation ratio of the CM groups and the drying procedure. All parameters have a tailoring role in the micro-organization of starch chains (Assaad et Mateescu, 2010; Lemieux *et al.*, 2010). Anionic carboxymethyl starch can be used as pH-responsive pharmaceutical excipient. The aqueous carboxymethylation of HAS with low DS produced a semi-amorphous starch excipient. When exposed to gastric acidity, the tablets based on CMHAS will form an outer compact layer due to protonation of carboxylic groups preventing thus the acidic medium to penetrate the tablet (Calinescu *et al.*, 2012). In the intestinal fluid (at neutral pH), the outer CM groups are deprotonated, ionized, and hydrated. The tablets swell, and by erosion or disintegration, release the drug. These structural changes related to pH were valorized in formulation of gastro-resistant tablets for oral delivery of various drugs including bioactive agents such as pancreatic enzymes (Massicotte *et al.*, 2008), F4 fimbriae oral vaccine, probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*) (Calinescu et Mateescu, 2008; Calinescu *et al.*, 2005; Calinescu *et al.*, 2007). Allowing a tunable release delay, CMHAS was also described as an excipient for drug chronodelivery (Ispas-Szabo *et al.*, 2017a). The process of aqueous carboxymethylation, being 'solvent-free' and of low-cost, is of interest for industrial purposes and for "green" pharmaceutical products.

Starch may also be used under film form with pharmaceutical applications *i.e.*, oral fast-disintegrating films (**Chan *et al.*, 2019; Garcia *et al.*, 2018**), transdermal delivery (Gök *et al.*, 2017) and soluble coatings for tablets. There are many reports on films based on common starches (*i.e.*, corn, potato, rice) with plasticizers, but only a few described plasticizer-free films made of modified HAS (Rioux *et al.*, 2002). Acetylated HAS is film-forming material but in the context of colon-targeting tablet coatings, it was not possible to use it alone, the addition of ethyl cellulose being required to enhance its solubility (**Bisharat *et al.*, 2019; Kumar *et al.*, 2014; Seenivasan *et al.*, 2013**).

In this study, different excipients were obtained by aqueous-phase modifications of HAS and it was interesting to investigate their matrix-forming and filmogenic properties. The report is focused on the physical-chemical characterization of different starch derivatives and on the correlation of their properties under powder, tablet and film forms. A more complete understanding of such structural modifications will be useful to expand the range of applicability of starch-based materials in the pharmaceutical field. Such correlations can also be important tools for formulators in selection of type of starch and modification level, depending on specific application.

## 5.2 Materials and Methods

### 5.2.1 Reagents

Hylon VII® (~70% amylose), Melojel® (~28% amylose) and PenPure60® native potato starch were generous gifts from Ingredion (Westchester, IL, USA). Potato amylose (100%) and potato amylopectin (100%) were purchased from BDH Biochemicals (Chemical Division, Toronto, CA). Vivastar® was a gift from JRS Pharma (Patterson, NY, USA). Chloroethylamine hydrochloride (CEA), glycidyl trimethylammonium chloride (GTMAC), sodium carboxymethyl cellulose (CMC) with a MW of 90,000 g/mol, sodium monochloroacetate (SMCA), sodium trimetaphosphate (STMP) and other chemicals were all reagent grade and used as received from Millipore Sigma (Burlington, Massachusetts, USA). Pancreatin from porcine pancreas (8x concentrated) was purchased from Millipore Sigma. The proposed time to simulate gastric transit is 2 h in simulated gastric (SGF) followed by simulated intestinal fluid (SIF) The SGF was made with 7 mL HCl (37% w/w) and 2 g NaCl for 1 L (as described by the USP-43, NF 38 [37]). The SIF was prepared with 6.8 g monobasic potassium phosphate in 750 mL distilled water and 77 mL 0.2 N NaOH and adjusted to pH 6.8 with 0.2 N NaOH as described by the USP-43, NF 38 [37].

### 5.2.2 Starch modifications

The procedures and the derivatives are presented in Figure S1 and summarized in Table 5.1. The following parameters were examined: (i) amylose/amylopectin ratio (by selection of different starch sources), (ii) gelatinization conditions (temperature, medium, time) and (iii) chemical modifications (crosslinking, grafting of ionic groups). Starch carboxymethylation (**CMHAS#1**) (Figure S1) was done as previously described (Massicotte *et al.*, 2008). Briefly, 140 g HAS were suspended in 340 mL water at 55 °C with a benchtop stirrer. Then, 320 mL of 2M NaOH were added. After 20 min of gelatinization, 70 g of sodium monochloroacetate (SMCA) were added under stirring. The mixture was kept under agitation for 1 h, cooled, neutralized with acetic acid, and precipitated with aqueous methanol (60% v/v). The precipitate was washed with aqueous methanol (60% v/v) until the conductivity was below 50 µS and finally dried with acetone and filtered.

**CMHAS#2** was obtained by heating the HAS suspension at 90 °C for 1 h before adding NaOH and proceeding with carboxymethylation as for CMHAS#1 except that the amount of SMCA directly in powder form was doubled. **CMHAS#3** was synthesized as the CMHAS#1 but with a gelatinization time extended to 1 h. HAS was cross-linked (**HAS-CL20**) using the same gelatinization parameters as for CMHAS by adding sodium trimetaphosphate (STMP) at 20 g / 100 g of starch.

CMHAS was also cross-linked to obtain **CMHAS-CL10**. The crosslinking was repeated with the slurry method using only half the volume of water, thereby obtaining the hereto called **CMHAS-CL10#2**. Corn (**CS**) and potato starch (**PS**) were carboxymethylated and cross-linked to generate CMCS-CL10 and CMPS-CL10, for comparison. Two different ampholytic derivatives (carrying both aminoethyl and CM-groups) were also synthesized (**Figure S1**). The starch hydroxyls were substituted with quaternary ammonium functions by reacting with glycidyltrimethylammonium chloride (GTMAC) during the synthesis of CMHAS, as previously described (Benyerbah *et al.*, 2019), leading to the formation of (2-hydroxypropyl) trimethylammoniumcarboxymethylHAS (TMACMHAS). TMACMHAS cross-linked with STMP was also prepared, in a one-step reaction, termed **TMACMHAS-CL10**. Lastly, HAS was aminated with 2-chloroethylamine hydrochloride (CEA) and carboxymethylated, generating AECMHAS, as previously reported (Sakeer *et al.*, 2018).



**Tableau 5.1 Synthesis in aqueous phase of starch derivatives**

Type of modification	Physical	Chemical (g reagent/100g starch)			Derivative name	DS <sub>titr</sub>	Ref.
Type of Starch	Gelatinization step	Cross-linked with STMP	Grafting ionic groups				
				Anionic with SMCA	Cationic		
HAS	20 min aqueous 2M NaOH	20g	-	-	HAS-CL20	0.00	(Mulhbacher <i>et al.</i> , 2001)
		-	50g	-	CMHAS#1	0.15	(Massicotte <i>et al.</i> , 2008)
	60 min H <sub>2</sub> O, boiled	-	100g	-	CMHAS#2	0.34	-
		-	50g	-	CMHAS#3	0.19	-
	60 min aqueous 2M NaOH	10g	75g	GTMAC 97.6mL	TMACMHAS-CL10	0.35	(Benyerbah <i>et al.</i> , 2019)
		-	75g	CEA 75g	AECMHAS	0.22	[18]
Corn	20 min aqueous 2M NaOH	10g	50g	-	CMHAS-CL10 #2	0.19	(Dumoulin <i>et al.</i> , 1998)
Potato			50g	-	CMCS	0.15	(Massicotte <i>et al.</i> , 2008)
		10g	50g	-	CMPS-CL10	0.22	(Mulhbacher <i>et al.</i> , 2001)

### 5.2.3 Characterization of powders

The degree of substitution (DS) of the CM-starch is defined as the number of substituted hydroxyls on each glucose unit (maximum 3). **Determination of the DS** by back titration was done as per literature (Stojanović *et al.*, 2005). A sample is protonated in 2 M HCl for 30 min, filtered and washed as previously detailed. The final pH of wet powders after full protonation was around 3.2. The FTIR band at 1593 cm<sup>-1</sup> corresponding to carboxylate group was absent, triggering the appearance of the band at 1650 cm<sup>-1</sup> attributed to the carboxylic acid group. For each sample, approximately 100 mg were accurately weighed and dissolved in 0.05 M NaOH (with little heating if needed) and then titrated with 20 mL of 0.05 M HCl using phenolphthalein as indicator. The DS was calculated from Equation (1), where 162 g/mol is the molecular weight of a glucose unit, 58 g/mol is the increase in molecular weight accounted for each CM group substituted and m<sub>dry</sub> is the mass of the dry sample.

$$DS = 162 \times n_{\text{COOH}} / m_{\text{dry}} - 58 \times n_{\text{COOH}} \quad (1)$$

The amount of CM groups ( $n_{\text{COOH}}$ ) is given by Equation (2), where  $V_b$  is the volume of HCl used for the titration of the blank,  $V$  is the volume of titration of the sample and  $C_{\text{HCl}}$  is the concentration of the HCl.

$$n_{\text{COOH}} = (V_b - V)C_{\text{HCl}} \quad (2)$$

**X-ray diffraction (XRD):** Diffractograms were recorded on a Bruker D8 (Billerica, MA, USA), from 5 to 35° (2θ). Powders were flattened in the sample holders, tablets were fitted with the height of the holder and

the films were fixed to a glass square with tape on the sides. Baselines were fitted with 8 points and the relative crystallinity (**RC**) was calculated as the percentage of peak area from the total area under the curve (by the software). A new parameter, the percentage of V-type (**%V**), was calculated as the intensity of V-type peaks (13.4 and 19.8 °2 $\theta$ ) from the total intensity of the cumulative peaks.

**Fourier-transformed infrared (FTIR) spectroscopy** was used to evaluate the short-range order in starch structures. The C-O-H bending bands 1044, 1035, 1022 and 995 cm<sup>-1</sup> may be used to estimate changes in ordered and amorphous starch chains (Figure S2). The amount of crystallinity (**AOC**), related to the gelatinization/retrogradation process, was evaluated by the ratio 1044/1035 (van Soest *et al.*, 1995). The ratio 995/1022 represents the crystallinity index, **CI**, defined as the smectic organization of the helices (Capron *et al.*, 2007). The ratios were compared after two different correction methods and in relation to different deconvolution parameters (Tables S1 and S2).

**Viscosity** was evaluated for each starch material in 2% (w/v) aqueous solutions at 25 °C  $\pm$  2 °C (using an oscillating viscometer SV-10 (A&D Ltd., Japan), with a small sample adaptor for 40 mL. Vivastar<sup>®</sup> is very hydrophilic and consequently its viscosity (higher than that of HAS and of CS) was measured at 1% (w/v).

**Thermogravimetric analysis.** Approximately 3 mg of each sample were analyzed without further conditioning. The thermogravimetric curves were recorded on a TGA Q500 (TA Instruments, New Castle, DE, USA) from 25 to 375 °C under nitrogen conditions. The degradation onset was determined by intersection of the slope line with the linear part of the curve. The water content was estimated by the weight loss measured at 150 °C (end of the slope). The temperature for 50% weight loss (**T<sub>w50</sub>**) was previously reported to be representative of the amylose content of starch samples (Stawski, 2008). In this study, the change of slope for HAS materials was interfering with the measurement of **T<sub>w50</sub>**. For this reason, **T<sub>w50</sub>** was also compared with **T<sub>w60</sub>** (the temperature at 60% weight loss), and to the main peaks of the differential thermogravimetric curves (**DTG<sub>max</sub>**).

**The blue value (BV)** is a parameter related to the capacity of starch to form helical complex with iodine. It was used to estimate the impact of the modifications on the structure. The BV test was done as previously reported (Nwokocha et Ogunmola, 2014). Absorbances of the starch-iodine complex were analyzed in triplicate between 200 and 900 nm with a Libra S50 spectrophotometer (Biochrom US, Holliston, MA, USA) using a quartz cuvette. The BV was reported as the absorbance of the samples at 640 nm (**A<sub>640</sub>**). The apparent amylose content (**AAC**) was calculated from a linear regression using pure amylose and pure

amylopectin (Lima *et al.*, 2020). The ratio  $A_{525}/A_{640}$ , representative of the amylose:amylopectin ratio (Khachatryan *et al.*, 2014; Morrison et Laignelet, 1983), was also analyzed.

#### 5.2.4 Tablet preparation and testing

The starch powders (300 mg) were compressed in a 9.54 mm diameter cylindrical mold with a manual hydraulic press (Carver, Inc., Savannah, GA, USA) at 2 tons for 10 s. The powders were conditioned at ambient environment without further treatment prior to compression. **Tablet hardness** was evaluated on a BenchSaver™ Series hardness tester (Varian, Inc., Cary, NC, USA). Structural parameters were evaluated by XRD and FTIR, as described in Section 2.3.

**Tablet water uptake**—The tablets (300 mg) were incubated in an incubator shaker at 37 °C, 100 rpm, 2 h in 40 mL SGF followed by 2 h in 40 mL SIF and weighed after each step. Results are expressed as the mass of the wet tablets.

**Disintegration test**—A disintegration bath (Electrolab disintegration tester EDi-2, Betatek Inc., Toronto, ON, Canada) was used following the recommendation of the United States Pharmacopeia (USP <701>) on physical testing (chapter 701-disintegration). The containers were first filled with simulated gastric fluid (**SGF**) for 2 h and then replaced by simulated intestinal fluids (**SIF**) for the remaining time. Initially, tablets were allowed to hydrate 4–5 min prior to placing the floating disks in the cylinders.

#### 5.2.5 Film casting and testing

**Preparation:** the films were obtained in hexagonal polystyrene molds by casting (evaporation of the filmogenic compositions) in ambient conditions. The preparations were made with 3.5% *w/w* starch derivatives in distilled water, without plasticizers. For better homogenization, solutions were heated in a boiling water bath and then agitated slowly on a rotary agitator. After heating, the viscosity was lower, generating filmogenic formulations with an average density of  $0.99 \pm 0.02$  g/mL. The hexagonal molds (diameter of 76 mm, area of 37.5 cm<sup>2</sup>) were filled with 14 g of each filmogenic preparation (0.37 g/mm<sup>2</sup>) and left to stand on a leveled surface at ambient conditions for 2 days.

**Testing of the films.** The films were analyzed by TGA, XRD and FTIR methods, as previously described.

**Moisture absorption**—Chambers were equilibrated with controlled relative humidity (RH) using different saturated salt solutions (200 mL) for at least one week. NaI, NaBr and NaCl were used for 40, ~60 and 75% (w/v) RH, respectively. Films were kept in the chambers for at least 3 days and their water uptake was expressed as percentage of their change in weight.

**Water uptake**—Films were immersed into SGF or SIF, delicately removed, carefully wiped, and weighed at specific time intervals for 1 h. The water uptake was expressed as the mass of the wet films.

**Solubility**—Dry films were weighed, submersed into SGF or SIF for 2 h (with or without enzymes), removed and air-dried at 60 °C until a constant weight was reached (about 3 days). Solubility was calculated as the percentage of weight loss based on the initial film weight.

#### 5.2.6 The cytotoxicity of various starch derivatives

The HRT-18 is an epithelial cell line derived from a colorectal adenocarcinoma. Cells were maintained in alpha MEM (Minimum Essential Medium) supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics (1% penicillin-streptomycin) in 5% CO<sub>2</sub> at 37 °C. HRT-18 cells ( $3 \times 10^5$ ) were treated with CMHAS, AECMHAS or Vivastar<sup>®</sup>, all at a final concentration of 0.05 mg/mL, in addition to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (positive control) and after two days, assayed for cell viability using XTT (2,3-bis (2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide salt). The XTT tetrazolium assay is based on the reduction of XTT by mitochondrial NADH enzymes converting XTT to formazan crystal (Adan et al., 2016). Briefly, the medium was removed followed by addition of 125 µL XTT solution (XTT 1 mg/mL, 7.5 mg/mL PMS phenazine methosulfate) for a 3h incubation. Absorbances were measured at 450 nm. Untreated cells (Mock) were set at the 100% viability value.

### 5.3 Results

It was of interest to correlate the structural data of the obtained starch derivatives in powder, tablet and film form (Table 5.2) to their behavior as potential multipurpose excipients for monolithic tablets or as coating films affording gastro-protection.

The TGA parameters, crystallinity, blue value, density and viscosity, diminished when increasing the modification. This is due to a lower organization, smaller crystals, helices altered by the modifications and to an increased solubility. These results are detailed and discussed below.

**Tableau 5.2 Characterization of the starch excipients using various methods.**

	XRD		FTIR			TGA		BV		Density	DS	Viscosity
	%V-type	%RC	AOC	Order	CI	DTG <sub>max</sub> (°C)	T <sub>w60</sub> (°C)	A <sub>640</sub> (au)	Ratio A <sub>525</sub> /A <sub>640</sub>	(g/mL)	CM	mPa.s
Hylon VII®	23	15.4	1.08	0.70	1.20	326	321	0.78	1.34	0.50	-	1
Gelatinized HAS	31	9.4	1.14	0.74	1.26	326	319	0.81	1.35	0.34	-	1
HAS-CL20	53	9.3	0.95	0.69	1.04	313	307	0.76	1.36	0.24	-	7
CMHAS#1	38	5.2	0.92	0.63	1.06	307	299	0.80	1.41	0.34	0.15	1
CMHAS#2	100	12.4	0.84	0.56	0.88	278	281	0.31	1.40	0.27	0.34	69
CMHAS#3	44	4.8	1.04	0.67	1.02	293	286	0.78	1.62	0.14	0.19	16
CMHAS-CL10#2	75	11.4	0.85	0.57	0.96	284	286	0.68	1.47	0.16	0.19	91
AECMHAS	88	9.4	0.95	0.56	0.87	275	278	0.70	1.63	0.12	0.22	24
TMACMHAS-CL10	32	1.9	0.91	0.63	0.93	274	274	0.09	0.93	0.37	0.35	8
PenPure® (native potato starch)	10	20.4	1.13	0.77	1.24	326	320	0.41	1.18	0.75	-	1
Vivastar® (CM and CL potato starch)	5	10.4	1.12	0.80	1.23	299	300	0.03	0.63	0.80	0.38	11010*
CMPS-CL10	-	-	0.91	0.56	1.07	314	322	0.10	0.95	-	0.22	314
Melojel®	7	24.2	1.36	0.77	1.20	333	327	0.42	1.21	0.56	-	1
CMCS	73	9.1	0.88	0.59	0.97	301	290	0.39	1.49	0.23	0.15	70
CMCS-CL10	-	-	0.93	0.59	1.07	311	319	0.37	1.39	-	0.20	298

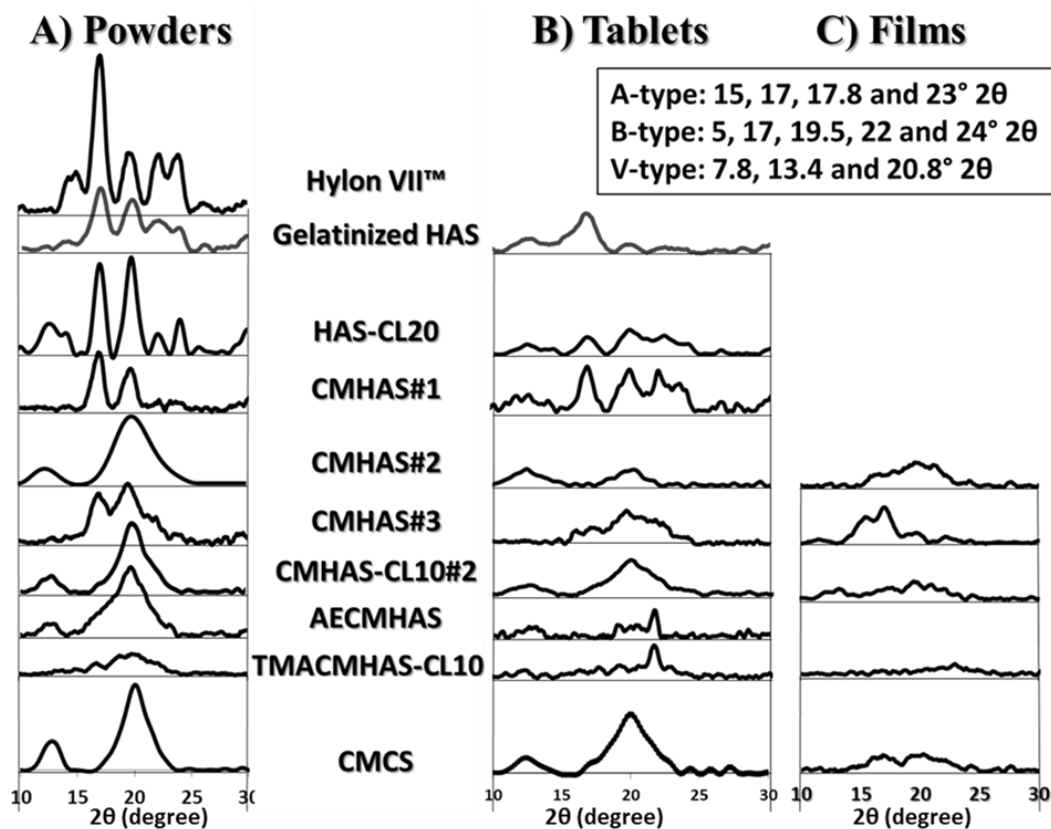
\*viscosity at 1% for Vivastar®.

### 5.3.1 Characterization of powders

Under a powder form, derivatives were mainly evaluated in relation to the degree of organization of polysaccharidic chains in crystalline or amorphous regions. The X-ray diffractometry is a reference method in starch structural analysis, allowing to observe the crystallinity resulting from the organization in ordered layers and allows quantification of the relative crystallinity (% RC). In aqueous phase, the crystallinity of a starch excipient is related to its retrogradation. This reorganization phenomenon may induce twisting or cracking of the cast films. The crystallinity may also be related to the chemical modification: the new functional groups grafted on the starch chains will hinder the retrogradation/crystalline forms.

The ratio of type A or B peaks to the V-type peaks may be indicative of the amylose to amylopectin ratio in the large crystalline regions. The diffractograms are presented in Figure 5.1A and the calculated RC and percentage of V-type (%V) organization are presented in Table 5.2 as long-range organization parameters. Gelatinization alone had a low impact on the crystallinity. The CMHAS#1 was obtained using a short gelatinization time prior to modification, and the remaining crystallinity was higher than for other derivatives. Amylopectin-related morphology (B-type) was still present (17°), as much as for CMHAS#3 (long gelatinization time), but both had a low DS (0.17) and a single type of chemical modification. Nevertheless, all derivatives had lower crystallinity than the gelatinized HAS, meaning that the presence

of carboxymethyl functions greatly hinders the retrogradation. The TMACMHAS-CL10 was the most amorphous material, due to the 3 types of chemical modifications plus 1 h gelatinization time.



**Figure 5.1**      **Diffractograms of the powders, tablets and films based on high-amylose starch (HAS) and derivatives and CM corn starch (CMCS).**

For CMHAS-CL10, the slurry method with higher concentration of NaOH (Table 5.2) may have more drastically disorganized the starch, inducing irreversible changes. In addition to physical modifications due to gelatinization, the additional chemical modification may also have been more efficient on the amylopectin, preventing its reorganization. The absence of amylopectin-related peaks for CMCS shows that it is more easily disorganized.

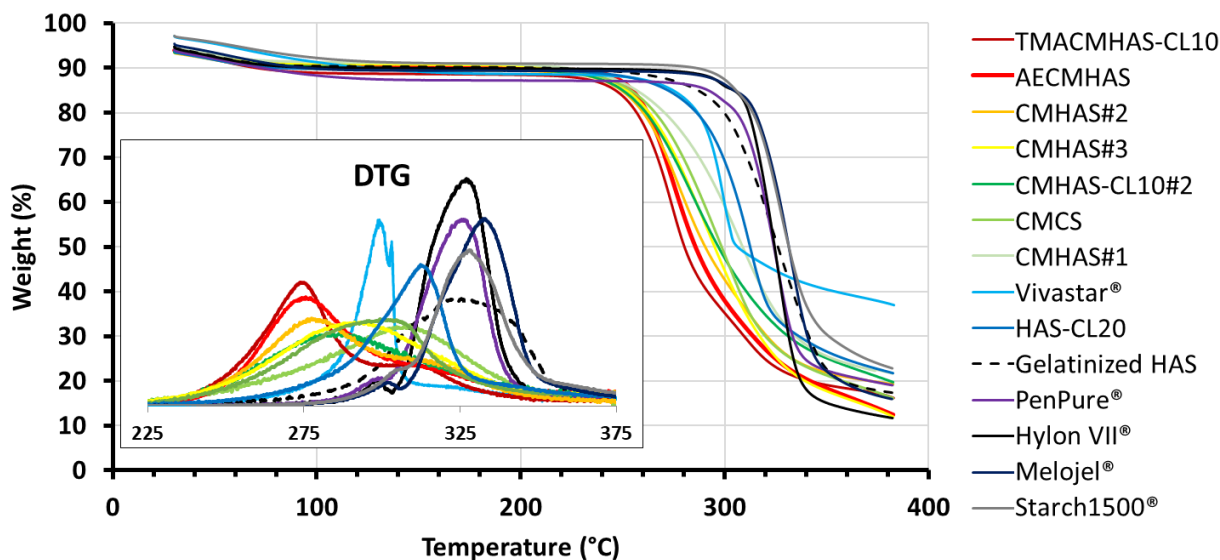
In HAS, it was proposed that amylose could be organized in crystalline structures (Shi *et al.*, 1998; Yang *et al.*, 2016b) and even participate in forming double helices (Jiang *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 1998). A partial remaining crystallinity after modifications on HAS was already reported and ascribed to better matrix-forming properties (Ispas-Szabo *et al.*, 2000).

Information available on evaluation of short-range organization parameter using FTIR to follow physical or chemical modification is scarce. The state (*i.e.*, dry, hydrated, paste, film, tablet) of the tested samples renders analysis even more difficult. In the new prepared derivatives, after carboxymethylation of HAS, a new band was observed around  $1590\text{ cm}^{-1}$  (Figure S2), attributed to new carboxylate functions. The spectra in region  $800\text{--}1185\text{ cm}^{-1}$  (insert of Figure S2) were corrected, deconvoluted and normalized to analyze the bands  $995$ ,  $1022$ ,  $1035$  and  $1044\text{ cm}^{-1}$ . Different parameters of FTIR band ratios were investigated (data in supplementary materials Tables S1 and S2). CI values for the amorphous HAS derivatives were lower than those of the modified amorphous corn starch and of the modified potato starch (Table 5.2, Figure S3). CI may therefore be a better indicator of crystallinity for amylopectin than for amylose. The changes in CI ratios correlated well with the gelatinization extent. The parameters of long-range and short-range organization are reported in Table S2.

Viscosity (Table 5.2) varies extensively depending on the physical and chemical modifications, but also on the macro-organization of the granules, while parameters from the TGA (onset,  $T_{W60}$ ,  $T_{W50}$  and  $DTG_{MAX}$ ) showed a decrease corresponding to the extent of the modifications (Figure 5.2): *i.e.*, the DS or the presence of different functional groups (Tables 5.2 and S3). Possibly, TGA data were related to the organization, whereas variation in viscosity was multifactorial (depending on macro-organization, DS, type of functional groups). Overall, the  $DTG_{MAX}$  was related to the crystallinity of samples, being lower for more amorphous and more hydrophilic excipients.

The blue value (**BV**) can give insights on the starch structure integrity. The absorbance spectra of the native starches showed a good correlation with the amylose:amylopectin ratio. The **BV**, the apparent amylose content (**AAC**) and  $A_{525}/A_{640}$  ratio were reported for native and modified starches (Table 5.2) and details of the analyses are added in supplementary material (Table S4).

Overall, the decreasing BV and AAC correlated with structural alteration due to gelatinization conditions and to steric hindrance caused by the chemical modifications. This resulted in a lower capacity to complex iodine and less coloration. Previous reports have mentioned that these values might depend on the degree of polymerization of amylose (Bailey et Whelan, 1961; Man *et al.*, 2014), the experiment setup (Samotus *et al.*, 2014) and the DS of modified starch (Nwokocha et Ogunmola, 2014).



**Figure 5.2** The TGA thermograms of the powder samples scanned at a heating rate of 10 °C/min. The insert shows the differential TGA (DTG).

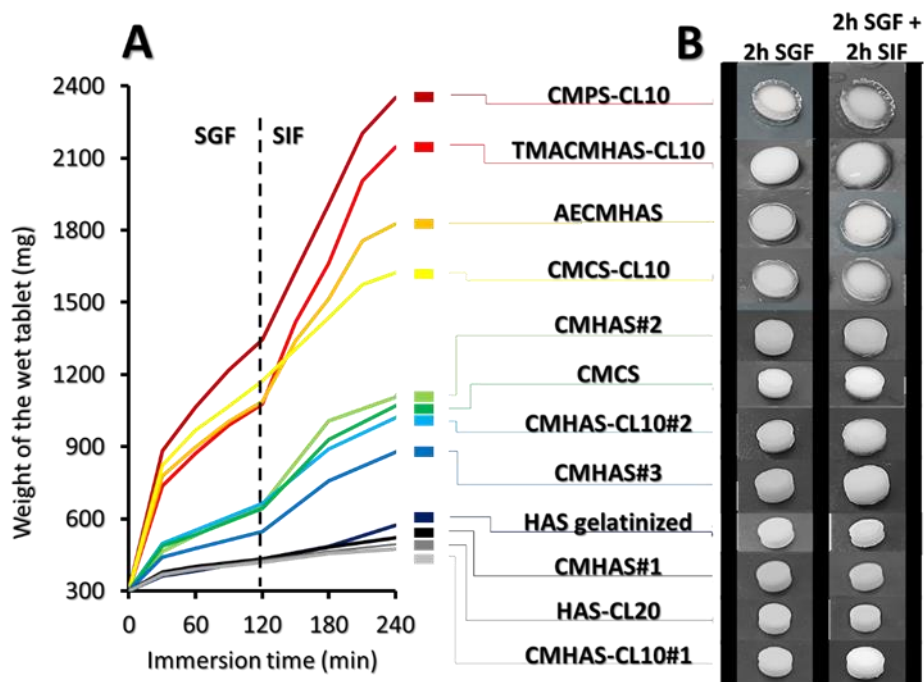
### 5.3.2 Characterization of tablets

Low density modified starches gave strong monolithic matrices. The water content of the starch influences the compression behavior (reorganization) and the cohesiveness (H-bonding) of the resulting materials (Regazzi *et al.*, 2016), modulating their hardness (not reported) and swelling (Figure S4). When the starch was dried before compaction, tablet swelling was different. It was observed that drying of the powders improved their flow properties and density, but it also impacted hydration, which was rapid on the surface of the tablet. This may be due to the absence of water to plasticize the starch upon compaction, leading to fragile tablets with different hydration speed. Compression of dried starch likely gave more porous matrices. Without water as a binder, holes and imperfections in the matrix are more probable and would accelerate fluid penetration.

The XRD profiles of starch tablets (Figure 5.1B) showed lower relative intensities and lower RC than the corresponding powders. The RC decreased after compaction (Table S2), which may be caused by compression of the granules and disturbance of the crystalline organization. A decrease in crystallinity is an usual observation for compaction (Bandyopadhyay *et al.*, 2005), concomitantly to a broadening of the peaks due to crystal deformation (Ainurofiq *et al.*, 2018). For all samples, amylopectin- and amylose-related crystallinities were reduced after compression (Figure 5.1, Table S2).



**Water uptake of the tablets** - The weight of the tablets during immersion is reported in Figure 3. The formation of a gel layer on the tablet surface is the combination of different processes. The solubility of starch arises after physical and chemical modifications (i.e., gelatinization, grafting) or due to the type of drying process, all factors impacting the organization of polysaccharidic chains. Due to tablet gelation (becoming a gel after hydration), the erosion rate of the tablet needs to be slower than that of its hydration, particularly for sustained release purposes.



**Figure 5.3** The weight of the tablets during water uptake (A) and pictures of tablets after 2 h in SGF first, followed by 2h incubation in SIF (B).

The powders with lower levels of organized polysaccharidic chains (resulting from the gelatinization step) generated strong tablets and denser granules, whereas aggregated powders gave friable tablets. Many modified HAS did not swell (gelatinized HAS, HAS-CL20, CMHAS#1, CMHAS-CL10#1), some swelled slightly (CMHAS#2, CMHAS#3, CMHAS-CL10#2 and CMCS) whereas others swelled greatly (CMPS and TMACMHAS derivatives without cross-linking). The CMPS had a high solubility due to the presence of potato starch. The solubility of TMACMHAS was related to the functional groups. Both were also obtained with cross-linking and tablets based on CMPS-CL10 or TMACMHAS-CL10 formed outer gel layers after immersion in SGF, showing that cross-linking created a stronger network. Furthermore, phosphate groups from the STMP can be easily protonated thereby contributing to the outer gel layer formation.

The CMCS-CL10 (based on corn starch) was gel-forming and its weight increased constantly in both media. The water uptake of ampholytic starches AECMHAS and TMACMHAS-CL10 was slower in SGF than in SIF due to the ionic stabilisation of ammonium with carboxylic groups. The weight gain was faster in SIF due to deprotonation of carboxylic functions. The higher solubility of ampholytic materials carrying ammonium salt groups resulted from protonation of amine in acidic medium.

**Erosion rate of the tablets** - The drug-free starch tablets were evaluated for 2 h in SGF and then in SIF in the presence of pancreatic amylases (Table 3). When exposed to these media, the ampholytic TMACMHAS-CL10 tablets were disintegrated after 3 ½ h, followed by tablets based on CMHAS#2, the CMCS-CL10, CMPS-CL10 and CMHAS#3. Tablets of gelatinized HAS started eroding after 7 h. The HAS-CL20, CMHAS#1, CMHAS-CL10#1, CMHAS-CL10#2 and CMCS tablets were not affected after 9 h but showed different behaviors: the first three were only hydrated, whereas the latter two formed gels. This different erosion behaviour indicates that the modified HAS derivatives are tunable matrix-forming materials.

**Tableau 5.3 Testing and observations of the tablets.** The powders were conditioned at ambient environment prior to compression (about 10 % w/v moisture). Tablets (300 mg, 9.54 mm diameter) were compressed at 2T for 10s. The water uptake was followed at 37 °C, 100 rpm and tablets behavior was observed in the USP apparatus #2.

Tablet Excipient	Swelling behavior in SGF/SIF	Weight after immersion in SGF/SIF with pancreatic enzymes after 7 h	Disintegration in SGF/SIF with enzymes, 37 °C		
			Time (± 15 min)	Final residue weight after 9h, dried	Erosion rate ER (%/h)
Hylon VII®	--	-	-	-	
Gelatinized HAS	Capped, fractured	89 %	>9 h	61 %	4.3
HAS-CL20	Hydrated and cracked	135 %	>9 h	78 %	2.4
CMHAS#1	Hydrated and cracked	213 %	>9 h	69 %	3.4
CMHAS#2	Outer gel layer	740 %	4h30	0 %	22.2
CMHAS#3	Outer gel layer	270 %	7 h	0 %	14.3
CMHAS-CL10#1	Hydrated and cracked	65 %	>9 h	69 %	3.4
CMHAS-CL10#2	Outer thin gel layer	386 %	>9 h	gel	11.1
AECMHAS	Outer thick gel layer	557 %	7 h	gel	14.3
TMACMHAS-CL10	Outer thin gel layer	0 %	3h30	0 %	28.6
CMCS	Outer gel layer	458 %	>9 h	gel	11.1
CMCS-CL10	Outer gel layer	357 %	6 h	gel	16.7
CMPS-CL10	Outer gel layer	778 %	6 h	gel	16.7

### 5.3.3 Characterization of the films

**The filmogenic solutions and aspect of films** - By using amorphous powders, it was possible to obtain films with interesting visual aspects (Figure 5.4A). The amorphous materials (CMHAS#2, CMHAS#3, CMHAS-CL10#2, CMCS) generated flat, smooth, and flexible films, probably due to the chemical modifications that prevented retrogradation. The physical modification (gelatinization) of HAS in aqueous NaOH allows preparation of powders that are fully soluble in cold water. With a low amylopectin content, the modified HAS generated easy to handle low viscosity preparations (Table 5.4). The filmogenic solutions of cross-linked HAS-CL20 and CMHAS-CL10#2 presented a higher viscosity, and homogeneous spreading was limiting. The non-gelatinized Hylon VII<sup>®</sup> suspension was not filmogenic, even after moderate heating due to its high amylose content generating strong H-bonds and crystallinity. CMHAS#1 and HAS-CL20 powders kept B-type and V-type crystallinity; they were not soluble and required heating to generate filmogenic solutions. The films were rigid and not completely flat when cast from solution without heating.

**Water content of the films**—Initial water content (at room condition), measured by TGA, was between 8% (w/v) and 9% (w/v).

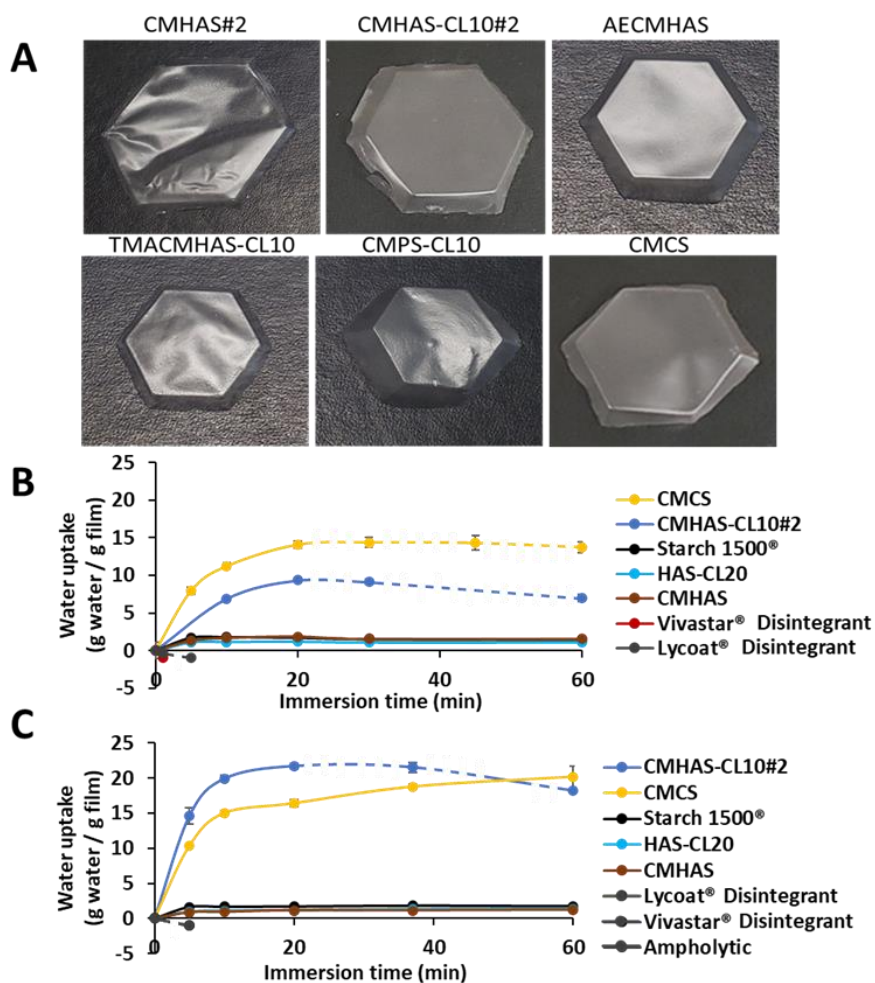
**Moisture absorption**—After conditioning at controlled relative humidity (40, 60 and 75% RH), changes in weight of the films were noted (Table 5.4). A slight increase (from 40 to 60% RH) was measured. At 75% RH, all films presented higher water content. The ampholytic TMACMHAS-CL10 was very sticky and could not be weighed appropriately. Solubility of the corresponding powder derivatives was in fact related to the moisture absorption of the films.

**Structural studies of the films** - The diffractograms of the films are presented in Figure 5.1C and related parameters are summarized in Table S2. CMHAS#2 had small peaks of V-type and B-type helices, while CMHAS-CL10#2 (slurry-type treatment) mostly contained V-type helix.

Band ratios (Table S2) were measured on the FTIR region 800–1185 cm<sup>-1</sup>. They were similar for HAS, potato, or corn starch films, suggesting that the organization after casting was similar, irrespective of the starch source or derivatives.

For the films, the maximal values of DTG increased in the following order: CMHAS#2 < TMACHAS-CL10 < AECMHAS < CMHAS#3 < CMHAS-CL10#2 < CMCS, showing a good correlation with their solubility (TGA and

DTG parameters of the films are reported in Table S3). This suggests that the displacement of the DTG maxima may be linked to the amorphous character of the initial powders and that the amorphous powders may generate more amorphous films compared to other starches.



**Figure 5.4 Film aspects and water uptake.** Pictures of the films obtained by casting of 3.5% (w/v) of corresponding aqueous solutions of HAS (CMHAS#2, CMHAS-CL10#2, AECMHAS, TMACMHAS-CL10), potato (CMPS-CL10) and corn (CMCS) starch derivatives (A). Water uptake of the films after immersion in SGF (B) and in SIF (C); dot line: beginning of erosion.

Effect of casting on structural organization was estimated in powders versus films. The short-range order (in FTIR) increased, while the long-range order (crystallinity by XRD) decreased (Figure 5.1) suggesting that films had smaller crystal size and that the amylopectin, with small chains, retrograded, whereas amylose did not. The amylose participates in the formation of a homogeneous network, in which the entanglement prevented retrogradation. It was previously suggested that amylose would reorganize around the amylopectin clusters and that the amylose:amylopectin ratio was an important parameter for the

formation of a network (Goesaert *et al.*, 2005). Regular starch films were reported to retrograde extensively. However, in films from modified HAS, this was prevented by the formation of such network. The averaged TGA data show that the final weight, onset and DTG peak were higher for the films than for the powders (Tables S3 and S5).

**Behavior of the films in acidic (SGF) and neutral (SIF) media - Water uptake** - The weight of the films after immersion in SGF were compared with their weight after immersion in SIF (Figure 5.4B). CMHAS-CL10#2 and CMCS were both hydrated forming thick gel sheets that resisted to immersion in SGF for 1 h. They had similar behavior in SIF but at this neutral pH, CMHAS-CL10#2 was more hydrated, showing a pH-dependent behavior, whereas the CMCS had the same water intake at both pH values.

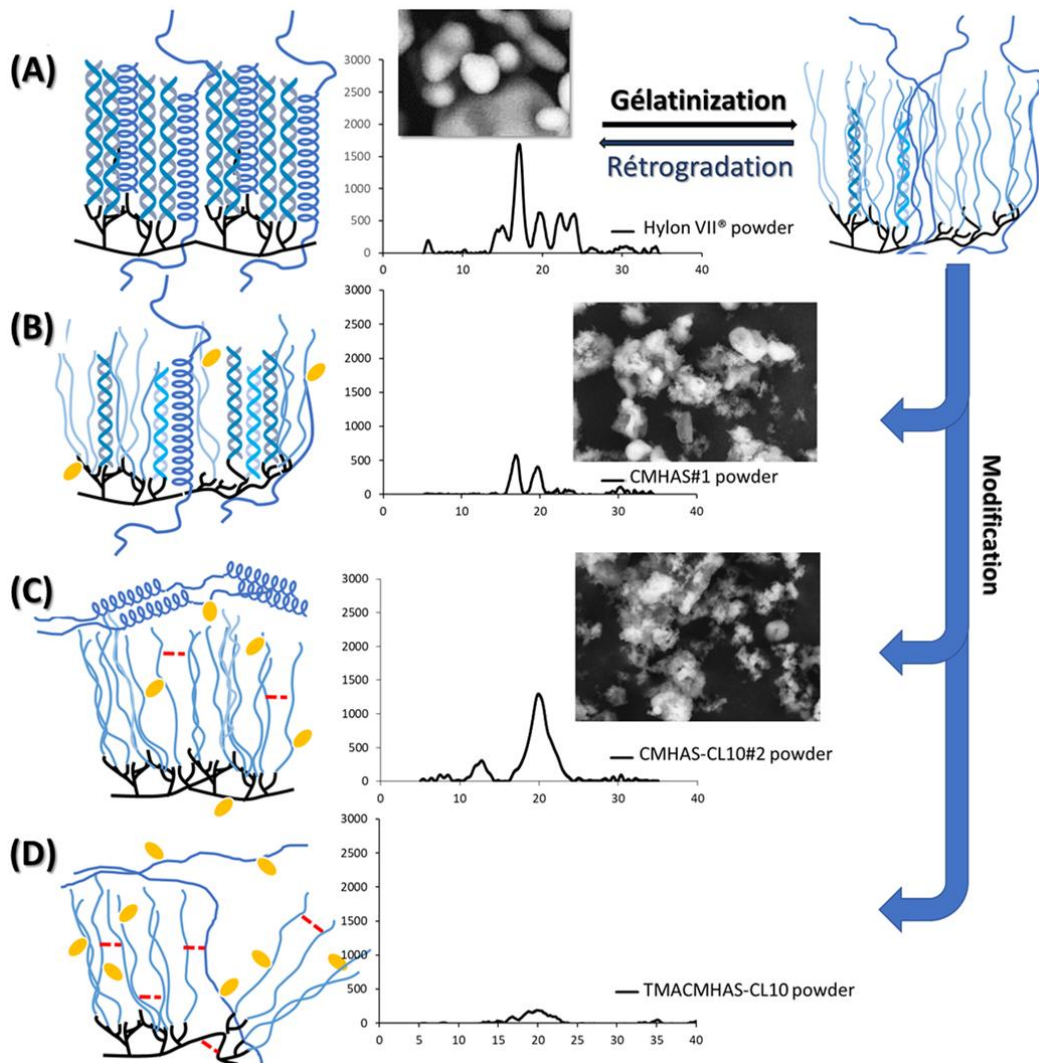
Solubility of the films made of HAS-CL20, CMHAS#1 or CMHAS#3 remained unchanged in the enzyme-free SGF/SIF system (Table 5.4). CMHAS#2 films were soluble in both media due to higher DS (0.34). The AECMHAS films remain intact in SGF and were solubilized in SIF, also showing a pH-dependent behavior, whereas TMACMHAS-CL10 films were solubilized in both media possibly related to the presence of basic TMA groups. Overall, HAS derivatives had lower solubility than the other starches.

This shows that the films based on CMHAS with low DS obtained from aqueous synthesis would be stable at acidic pH during the gastric transit and would be mainly degraded in SIF in the presence of  $\alpha$ -amylase.

**Tableau 5.4 Film related properties** : Viscosity of filmogenic solutions (3.5 % (w/v) of starch derivatives; Solubility of the films in SGF and SIF media; Change of the films weight during conditioning at 40%, 60% and 75% Relative Humidity (RH).

Derivative used for film formulation	Viscosity (mPa·s $\pm$ 5 mPa·s)	Solubility of films (weight loss as % w/w) after 2 h in SGF or in SIF followed by drying at 60 °C for 72 h		Weight change after conditioning reported to 40 % RH (% w/w)		
		2 h SGF	2 h SIF	40 % RH	60 % RH	75 % RH
HAS-CL20	159	1.7 $\pm$ 0.7	4.4 $\pm$ 0.4	-	-	-
CMHAS#1	29	2.6 $\pm$ 1.7	5.0 $\pm$ 1.1	0	2.0	4.8
CMHAS#2	31	100 %		0	0.9	3.8
CMHAS#3	41	0 $\pm$ 0.4	4.9 $\pm$ 0.9	0	1.1	4.2
CMHAS-CL10#2	86	Fragmented	Fragmented	0	1.0	4.5
AECMHAS	52	14.0 $\pm$ 2.1	100 %	0	0	Sticky
TMACMHAS-CL10	19	100 %		Sticky	Sticky	Sticky
CMCS (corn starch)	107	Fragmented	10.4 $\pm$ 16.1	0	1.0	3.7

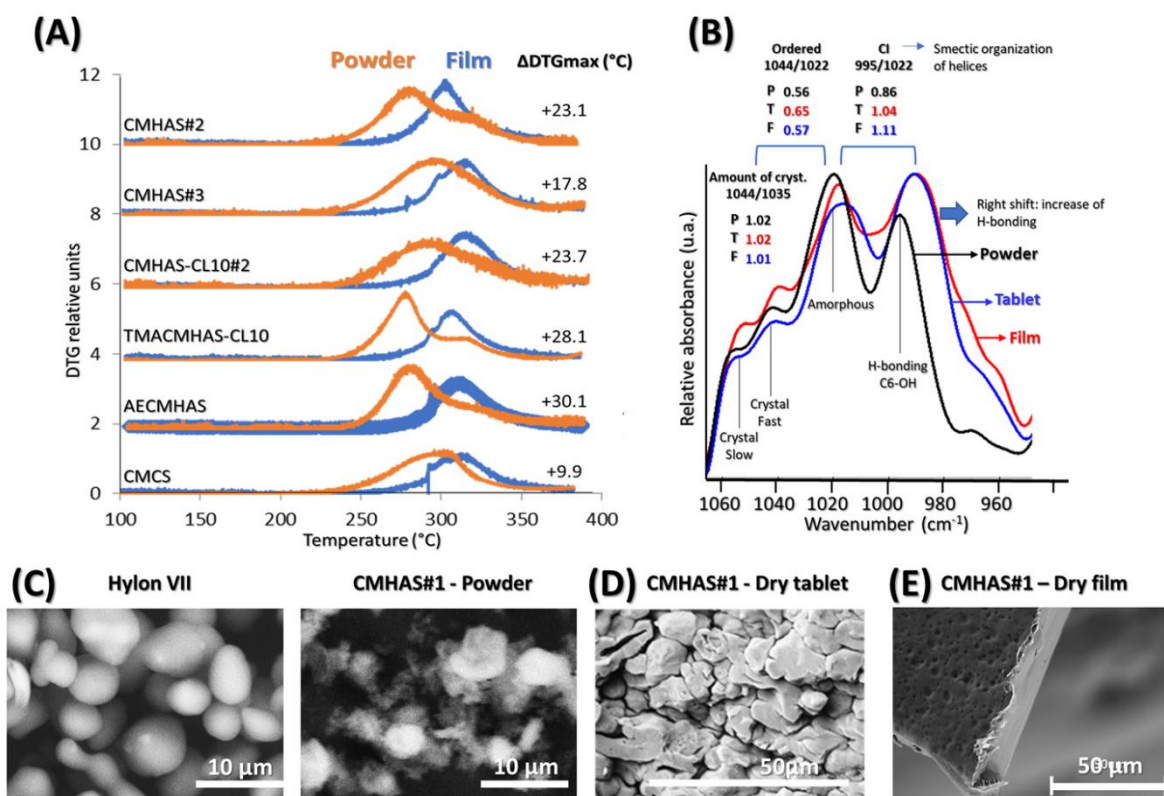
**Factors influencing the properties of the films from different starch types:** Highly viscous potato starch required dilution and hence longer evaporation time for similar film thickness, and could not be of interest for large scale film production. In addition, potato starch gelatinizes faster, forming soluble films. Corn starch generated homogeneous films, but were disintegrated in SGF. Amylose-rich starches were reported to form better films due to their capacity to orient in any direction (amylose chains shown in Figure 5.5 as disorganized coils, non-helical structures), in comparison to amylopectin which is too bulky to change its chain orientation and has a favored structural orientation toward small chains (Maniglia *et al.*, 2019).



**Figure 5.5** Schematic representation of the relationship between the structural organisation of starch after modifications and the X-ray diffraction pattern of (A) native high-amylose starch (HAS), (B) CMHAS, (C) CMHAS-CL and (D) ampholytic starch (TMACMHAS-CL10).

Due to physical (gelatinization Fig. 5.5A) and chemical (grafting of CM anionic - group Fig 5.5B, crosslinking -Fig 5.5C) modifications, the organization at molecular level is changing significantly. The films obtained from these powders had low-solubility behavior feature unique to HAS excipients.

The structural differences between the powder and film forms were evident using TGA (Figure 5.6A).

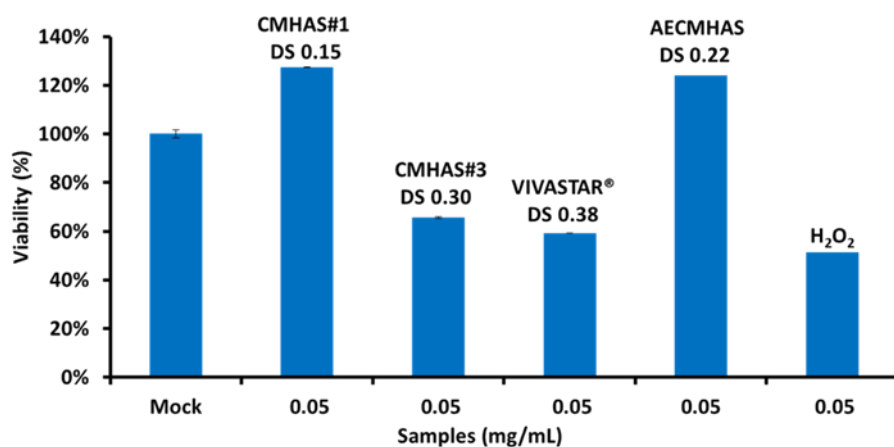


**Figure 5.6** DTG of the powders (orange) and of the films (blue) obtained from the TGA curves (10 °C/min) (A). Different structural parameters detailed in the ATR-FTIR deconvoluted spectra of AECMHAS in powder, tablet and film form (B). SEM of starch powders (C), CMHAS#1 tablet (D) and CMHAS#1 film (E).

The film, being bulkier, showed higher thermal stability than the powders. Changes were also observed in FTIR (Figure 5.6B), the tablet and film showing stronger bands associated to H-bonding and disorganization. SEM analysis revealed that native starch Hylon VII® particles are smooth and mostly round (Figure 5.6C). Contrarily, all prepared derivatives showed unregular forms with thin and pale hollow around. The starches modified in aqueous phase undergo a deep modification of granules, the structure of starch particles being almost completely disorganized. This disorganized, amorphous structure explains also the low densities obtained (Table 5.2). For CMHAS#1 with short gelatinization times, the granular shapes were still partly present. In the tablets, compaction increases the contact between chains and also distorts the

crystals. In presence of moisture, water acts as a plasticizer, generating denser and harder tablets that hydrate slowly (Figures 5.6D and S4). In the films, the material is denser (Figure 5.6E), forming more H-bonds, but greatly disorganized because the retrogradation is prevented by the entanglement of the chains.

**Cytotoxicity of starch derivatives** - CMHAS at a degree of substitution DS 0.15 showed no loss in cell viability (Figure 5.7), whereas moderate cytotoxicity was measured for CMHAS at higher substitution degree (DS 0.30). Higher toxicity of CMHAS at a higher DS could be related to the ionic disturbance of membrane proteins. Ampholytic AECMHAS derivatives demonstrated no cytotoxicity, potentially due to the compensation of carboxylic groups with the amine groups of the starch derivative. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (positive control) was cytotoxic at equivalent concentrations, as expected. For CMHAS (DS 0.15) no toxicity was found, even at higher concentrations (0.1 mg/mL).



**Figure 5.7 Cytotoxicity analysis** of ionic (CMHAS#1, CMHAS#3, Vivastar<sup>®</sup>) and ampholytic (AECMHAS) starch derivatives all at a final concentration of 0.05 mg/mL. The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was the positive control. As negative control, no toxicity was considered for untreated cells (Mock) with 100 % viability.

#### 5.4 Discussion

Correlations between structure and properties of analyzed excipients was examined in powders, tablets and films. Powders with minor chemical modifications all showed a residual crystallinity. Due to the precipitation method with acetone or alcohol that are slowly reducing the water content by dehydration, the hydroxyl groups are water-free.



They can be involved in intra-chain (helices) or inter-chain (network) hydrogen bonding with neighboring hydroxyl, carboxyl, amine or ammonium groups that will induce the starch chains to reorganize forming helices or hydrogels. In the film form (after water evaporation during drying), the amylose remained in the network, reducing the V-type crystallinity (XRD) and increasing the stability to thermal degradation (TGA) due to new starch-starch hydrogen bridges created during the casting process (Figure 5.6A). The powders and films from CMHAS#2 and TMACMHAS-CL10 were less stable to thermal degradation and generated soluble tablets and films. For CMCS, peaks for powder and film are more similar in comparison to those of other samples. AS opposed to HAS derivatives, the casting of corn starch derivatives did not give stable films because they do not contain sufficient amylose level to form a strong network.

Films had less V-type crystallinity than powders (as shown by XRD), whereas B-type peaks remained unchanged. If the amylose is reorganized outside the amylopectin, its crystallinity could be changed by compression of the crystal size. The CMCS powder showing a V-type crystallinity was completely amorphous once cast as films.

**FTIR**—Tablets and films presented a larger band than the powders at  $995\text{ cm}^{-1}$  resulting in increased CI after tableting or processing into films (Figure 5.6B). This higher CI is surprising, since the XRD gave lower signal intensity. It is possible that the FTIR structural parameter CI mainly refers to the proximity of the starch chains (short-range order), increased in the tablet and film forms. Apart from Vivastar<sup>®</sup>, tested films revealed higher CI than powders, a similar trend was also observed for the tablets. The increasing short-range order observed in films compared to powders was induced by the hydration during the casting, which allowed reorganization into crystallites. It may also be related to the sample physical form, the film being bulkier than the powder.

The AOC did not markedly differ between powders, tablets and films from the same material, but differed between various materials. This parameter is more representative of the stability related to the retrogradation extent which depends on chemical modifications, moisture and time elapsed after synthesis.

The DTG<sub>max</sub> of the powders was a good parameter to predict the solubility of the corresponding tablets and films, but only in the frame of similar starch sources (Table S7A and B). DTG<sub>max</sub> may provide a better estimation than the % RC or % V-type obtained from XRD. The DTG<sub>max</sub> also seemed more representative

than the FTIR ratios to anticipate the solubility, because the FTIR values are sensitive to moisture and retrogradation (i.e., storage time after modification).

**The starch types** were determinant for the solubility of their powders, tablets and films. They also had a role in the viscosity of the filmogenic solutions. The modification of HAS required longer gelatinization time than for potato or corn starch, but generated filmogenic solutions with low viscosity and films with low solubility. The films of HAS derivatives were also more resistant during hydration compared to those of CMCS that were broken in pieces or to those based on modified potato starch that were too fragile.

Amylose-rich starches were reported to form better films due to the amylose's capacity to orient in any direction, in comparison to amylopectin that is too bulky to change its chain orientation and has a favored orientation for the small chains in its structure (Maniglia *et al.*, 2019). This low-solubility behavior is unique to HAS. It was tuned by addition of anionic and cationic functional groups, resulting in film-forming excipients with various solubility.

The solubility of the films was increased by various chemical modifications. By increasing ionicity and reducing crystallinity, starch modifications increased the solubility of the powders, tablets and films. The gelatinization time before the reaction influenced the crystallinity and was a more important parameter for modification of HAS than for other starches. A longer gelatinization time improved the gelatinization, and the powder was soluble in cold water.

## 5.5 Conclusions

The study shows that the synthesis in aqueous phase consists in the complete disorganization of the starch granules and generating powders with low density and unique film- and matrix-forming features. The process is safe, affordable, green and could be further exploited in pharmaceutical industry.

The HAS is less crystalline and less soluble than other starches and appropriate derivatization may improve its tableting, gel-forming or filmogenic capacity.

Several avenues to modify starch structure were explored (crosslinking, grafting of ionic groups, DS) and their impact on the functionality of the obtained materials was investigated. As novelty, for certain starch excipients the correlations between characteristic features under powder, tablet, and film form may be

the key predictive parameters that could facilitate the choice for a specific application. Thus, if the grafting of ionic groups (CM) increased the gel-forming capacity of the materials, the cross-linking increased the film strength. The DS 0.2 generated insoluble films that were degraded only in presence of  $\alpha$ -amylase. The gel formation was clearly increased for ampholytic HAS, comparable to that of potato and corn starch derivatives.

Cross-linked carboxymethyl high-amylose starch could be considered as a multifunctional excipient for tablets and films with the added feature of tunable solubility of relevance in the gastric and enteric media.

The relationship between the parameters of the powders for all starches (Table S6A) and HAS derivatives (Table S6B) showed that BV is useful only when the starch source is the same.

From the correlation established between the different powder, film or tablet parameters (Table S7) it was found that the “gelatinization time” (GT) is related with  $DTG_{MAX}$ , with the relative crystallinity (%RC) and with the amylose crystallinity (%V).

In summary, key parameters to modulate functionality of derivatives are starch source, thermal treatment, and the presence of ionic groups.

As perspective, the tunable solubility of the starch films could be a great feature to various formulations for functional coatings based on natural polymers.

**Funding:** This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, grant number 06919) and by the Courtois Foundation, Canada. The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments:** The kind supply of HAS by Ingredion is gratefully acknowledged.

**Supplementary material** in Annexe A.

**Abbreviations** - AAC: apparent amylose content; AE: aminoethyl; AOC: amount of crystallinity; BV: blue value; CEA: chloroethylamine; CI: crystallinity index; CM: carboxymethyl; CMHAS : carboxymethyl high amylose starch; CL: cross-linked; CMHAS-CL: carboxymethyl high amylose starch cross-linked; CMCS:

carboxymethyl corn starch; CMPS: carboxymethyl potato starch; DR: disintegration rate; DS: degree of substitution; DT: disintegration time; DTG: differential thermogravimetry; FTIR: Fourier-transformed infrared; GTMAC: glycidyl trimethylammonium chloride; HAS: high-amylose starch; RC: relative crystallinity; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid; SMCA: sodium monochloroacetate; STMP: sodium trimetaphosphate; TGA: thermogravimetric analysis; TMA: trimethylammonium; USP: United States Pharmacopeia; XRD: X-ray diffraction.

## CHAPITRE 6

### LE CARBOXYMÉTHYL AMIDON COMME ENROBAGE ENTÉRIQUE

Marc-André Labelle<sup>1</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1\*</sup>, Florent Vilotte<sup>2</sup> and Mircea-Alexandru Mateescu<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Département de Chimie, Chaire de recherche sur les dysfonctions entériques 'Allerdys', Centre CERMO-FC, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Montréal, Québec, H3C 3P8, Canada.

<sup>2</sup> Colorcon USA, Filière Canadienne, 3550 Rue Ashby, Saint-Laurent, Québec, H4R 2C1, Canada

#### Résumé

**Contexte** – Différents excipients pharmaceutiques dérivés d'amidon sont connus comme agents de remplissage, désintégrants et matériau formant des matrices pour les dosages oraux sous forme de comprimé. Cette étude propose le carboxyméthyl amidon riche en amylose comme enrobage pour comprimé offrant la gastro-protection.

**Méthodologie** – Des films de carboxyméthyl amidon avec et sans plastifiants ont été obtenus par coulage de solutions filmogènes aqueuses. Leur niveau d'organisation a été suivi par FTIR, par analyse thermogravimétrique et par diffraction des rayons X. Les propriétés mécaniques (élongation, module d'Young) et l'absorption d'eau des films (à différentes humidités relatives) ont été analysées. Les formulations aqueuses choisies ont été utilisées pour enrober des comprimés et leur comportement a été évalué dans le fluide gastrique simulé.

**Résultats** – Les plastifiants (glycérol et sorbitol) ont eu des effets différents sur l'organisation de l'amidon, sur l'absorption de vapeur d'eau et sur la vitesse de séchage des films. Les enrobages à base d'amidon riche en amylose, appliqués à l'aide d'une enrobeuse à lit perforé industrielle, ont bien adhéré aux noyaux à base de dérivés de cellulose ou sur la sous-couche d'hydroxypropylméthyl cellulose. Les comprimés enrobés finaux ont montré une bonne résistance à l'acidité gastrique.

**Conclusions** – Les formulations aqueuses à base du dérivé CMARA ont généré des enrobages offrant une protection contre l'acidité gastrique pendant 2h. L'utilisation du sorbitol comme plastifiant a minimisé l'impact de l'eau et a permis d'éviter que les comprimés deviennent collants pendant l'enrobage. Les

préparations de CMARA aqueuses ont un potentiel comme enrobage de dosages oraux sous forme de comprimé pour les formulations pharmaceutiques et de suppléments.

**Mots-clés**

Enrobage entérique de comprimé, plastifiants, paramètres structuraux, carboxyméthyl amidon, rhéologie des films

## **Carboxymethyl starch films as enteric coatings**

**Marc-André Labelle<sup>1</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1\*</sup>, Florent Vilotte<sup>2</sup> and Mircea-Alexandru Mateescu<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Department of Chemistry, Research Chair on Enteric Dysfunctions 'Allerdys', CERMO-FC Center, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Montreal, Quebec, H3C 3P8, Canada.*

*<sup>2</sup>Colorcon USA, Canada Branch, 3550 Rue Ashby, Saint-Laurent, Quebec, H4R 2C1, Canada*

### **Contribution de l'auteur principal et des co-auteurs**

Marc-André Labelle - Méthodologie, analyses, rédaction

Florent Vilotte – Enrobage (Colorcon)

Pompilia Ispas-Szabo - Rédaction, supervision du projet

Mircea Alexandru Mateescu - Supervision du projet et révision du manuscrit

**Publié dans : Journal of Pharmaceutical Sciences**

**Soumis le 10 avril 2023, Numéro du manuscrit : XPHS-D-23-00390**

**En resoumission**

## Abstract

This study proposes the application of carboxymethyl starch derivatives as tablet coatings affording gastro-protection. Carboxymethyl starch (CMS) films were obtained by casting of aqueous filmogenic starch solutions with or without plasticizers and their structural organization was followed using Fourier transform infrared (FTIR), Thermogravimetric analysis (TGA), X-ray diffraction (XRD). Together with data from mechanical tests (tensile strength, elongation, Young's modulus) the results were used to select filmogenic formulations adapted for coatings of tablets. The behaviour of these films was evaluated in simulated gastric and intestinal fluids. The effect of plasticizers (glycerol and sorbitol) on the starch organization, on the rate of drying of the films and on the water vapor absorption was also analyzed.

Various types of starch have been compared and the best results were found with high amylose starch (HAS) that was carboxymethylated in an aqueous phase to obtain carboxymethyl high amylose starch (CMHAS). The CMHAS coating solutions containing sorbitol or glycerol as plasticizers have been applied with an industrial pan coater and the final tablets exhibited a good gastro-resistance (up to 2h) in simulated gastric fluid followed by disintegration in simulated intestinal fluid (SIF). The CMHAS derivatives present a high potential as coatings for nutraceutical and pharmaceutical solid dosage forms.

## Keywords

enteric tablet coatings, plasticizers, structural parameters, carboxymethyl starch, film rheology

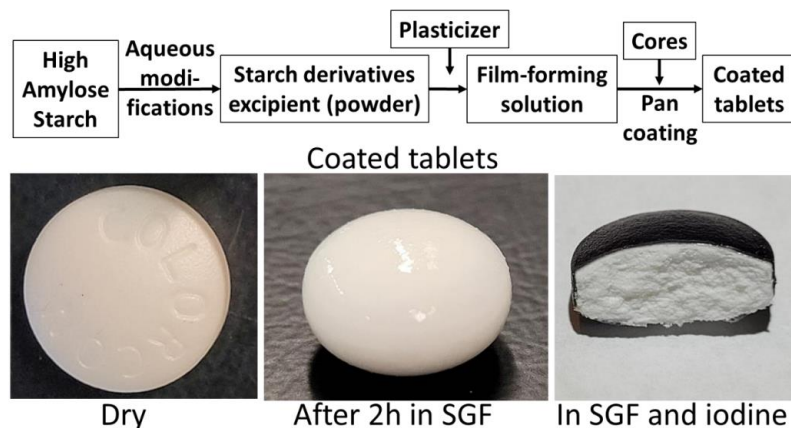
## Highlights

- Homogeneous coatings were obtained using an aqueous formulation of CMHAS and sorbitol plasticizer.
- CMHAS enteric coatings resisted for 2h in gastric acidity (pH 1.2) and were disrupted only at neutral pH 6.8.
- Reduced solubility and high mechanical strength of CMHAS cast films are predictive for the selection of a good enteric coating formulation.
- In the presence of alpha-amylase at neutral pH the coatings were totally disintegrated.
- Amylose: Amylopectin ratio and gelatinization conditions are determinants for the CMHAS coating features.



**List of abbreviations** – AOC: amount of crystallinity; CI: crystallinity index; CMHAS: carboxymethyl high amylose starch; EAB: elongation at break; G: glycerol; HAS: high amylose starch; S: sorbitol; SGF: simulated gastric fluid; SIF: simulated intestinal fluid; WG: weight gain.

### Graphical abstract



### 6.1 Introduction

Polymers from natural sources, such as starch, are valuable materials for degradable or edible products. Starch may be modified to tune its properties and to achieve various functions as an ingredient in food, pharmaceutical formulations or as a matrix in bio-engineering and medical applications. Starch is composed of amylose (unbranched 1,4-polyglucosidic chain) and of amylopectin (branched 1,4 and 1,6-polyglucosidic linkages) in different ratios depending on the source. Water content has an important influence on starch organization by affecting its properties. For example, starch films can be obtained by heat-compression molding/extrusion (Lomelí-Ramírez *et al.*, 2014) of the powder or by casting of aqueous filmogenic solutions (Rindlav-Westling *et al.*, 2002). Filmogenic solutions may be obtained after hydrothermal treatment intended to disorganize the starch (Krogars *et al.*, 2002a) or by using cold-water soluble starch (Krogars *et al.*, 2002a). Aqueous-based native starch films were obtained without plasticizers (Rindlav-Westling *et al.*, 2002). Contrarily, native starch coatings required the incorporation of a polymer such as ethylcellulose (Karrout *et al.*, 2010a) or of plasticizers such as glycerol or sorbitol (Palviainen *et al.*, 2001).

The ideal film for coatings should exhibit high tensile strength and good elongation (Tarvainen *et al.*, 2002). The usage of plasticizers may have a significant influence on physico-chemical properties of starch-based

films (Müller *et al.*, 2008b). Glycerol has been used because it interferes with amylose packing and can improve flexibility of films (Rompothi *et al.*, 2017). In starch-based films for food packaging, the tensile strength was decreased whereas the elongation at break was improved at higher concentrations of glycerol (Rompothi *et al.*, 2017). For sorbitol, its plasticizer effect was related to its many hydroxyl groups which can interact with -OH or -NH rich polymers, contributing to the flexibility of the films (Dufresne et Castaño, 2017). However, the efficacy of the two plasticizers was not explored in relation to starch-based films for tablet coating applications.

Being from a natural source, starch is used to protect fruits and vegetables with edible films (Cortés-Rodríguez *et al.*, 2020; Gutiérrez *et al.*, 2015; Tapia *et al.*, 2012) (Parissaux *et al.*, 2014) and to create biodegradable plastics (Glenn *et al.*, 2014); (Koenig et Huang, 1995). The properties of the films are impacted by the modification of starch. Chemical modification weakened the hydrogen bonding between chains, reducing the viscosity and starch crystallinity (Woggum *et al.*, 2014). Enzymatic debranching reduced the water barrier properties and increased the tensile strength of films probably due to an increase in amylose content and stronger interactions between starch chains (Hu *et al.*, 2019). Depending on the specific application, the formulation of the films may be tailored to provide the required properties.

In pharmaceuticals, an important strategy to enhance bioavailability of orally administered drugs is to target their release to the absorption window (specific segments of the gastro-intestinal tractus). There is an increasing interest for starch-based films for the enteric coating systems. There is also a growing need of oral dosage forms for colonic delivery, particularly related to the increasing incidence of inflammatory bowel diseases (Park *et al.*, 2020). From this perspective, a wide range of formulation approaches has been explored considering the physiological parameters of small and large bowel regions. Enteric-coated dosage forms were largely developed using the differences in the pH of gastric and intestinal fluids containing pancreatic and bile secretions. Polymethacrylates (Eudragit® S, Eudragit® L and Eudragit® FS) have a pH-dependent solubility ranging from 6.0-7.5. For more than 40 years, they have been the main coating materials used to protect the formulations from gastric acidity or from upper intestine fluids. Together with hypromellose acetate succinate (HPMC-AS) they are the materials frequently used for regular enteric coating and sustained release formulations (Marvola *et al.*, 1999). One of the formulation strategies employed for the commercially available anti-inflammatory drugs to treat ulcerative colitis and Crohn's disease (IBD) consists of high-amylose starch blended with Eudragit®. Based on its dual pH and microbiota-triggered delivery, Phloral™ was proposed for colon drug release showing disintegration in the ileo-cecal

junction and in the colon (Varum *et al.*, 2020). Nevertheless, Eudragit® is synthetic and the market lacks natural-sourced enteric coating materials.

High amylose starch (HAS) is less soluble than other starches and has limited susceptibility to degradation by intestinal  $\alpha$ -amylase. It is a good candidate for enteric coating but was not much studied. Autoclaved HAS with plasticizers was used as quick-dissolving coating (Krogars *et al.*, 2002a). Amylose, in the form of a butanol complex solution, was added to ethylcellulose coatings to improve colon-targeting (Milojevic *et al.*, 1996). Autoclaved HAS was also applied as coating on glass beads for intestine targeting (Dimantov *et al.*, 2004). Better coatings were obtained by association of HAS with other polymeric materials such as ethylcellulose, polyvinyl alcohol, pectin and zein (Basit *et al.*, 2009; Bisharat *et al.*, 2019; Charoenthai *et al.*, 2018; Ibekwe *et al.*, 2008; Meneguín *et al.*, 2018), increasing the solubility and showing better colon-targeting behavior due to susceptibility to  $\alpha$ -amylase.

Since more than 40 years, the enteric coating market was and is still ruled by methacrylate derivatives, which are fully synthetic polymers. Up to now, the only completely natural enteric starch-based coating available is a 1:4 mix of pea starch (pea starch N-735, Roquette Freres, Lestrem, France) with ethylcellulose (aqueous dispersion Aquacoat®ECD, FMC Biopolymer, Brussel, Belgium), and consists mainly of a cellulose coating containing some starch (Karrout *et al.*, 2011). In this case, the gastro-protection comes from the low-solubility of ethylcellulose and the mechanism is based on diffusion. Despite these developments, it is still lacking a natural enteric coating material that function without the need for association with other polymers.

Carboxymethyl starches (CMS) are anionic derivatives with various applications in drug delivery. The commercial excipient sodium starch glycolate (SSG, *i.e.* Vivastar®) is a powerful tablet disintegrant. The CMS was used as coating for nanoparticles (Saikia *et al.*, 2015), and as matrix for nanoparticles (Noori *et al.*, 2022). It was added to shellac formulation at 1:5 ratio to increase the coating solubility in the colon (Giovannone et De Angelis, 2012). The carboxymethyl HAS (**CMHAS**) powder, as a matrix-forming excipient, was found suitable for monolithic tablets able to provide protection against gastric acidity (Calinescu *et al.*, 2007). In acidic environment, the carboxyl is protonated, available for hydrogen bonding with other starch chains, and may form dimers, preventing the fluid penetration. In the intestine (near neutral pH), the sodium ions (associated with carboxylate groups) hinder the formation of dimers and being hydrophilic,

increase the CMHAS solubility. To the best of our knowledge, the **CMHAS**, cross-linked or not, was not investigated yet as a film for enteric coating of tablets.

Moreover, the consumer preferences are now orienting toward natural products with less chemical manipulations. Our aim was to increase the choice of materials for such formulations of nutraceutical or biological products. Owing to the carboxylate functions, the CMHAS shows a protective AND pH-dependent behavior, in addition to a better solubility at near-neutral pH (Assaad *et al.*, 2011; Calinescu *et al.*, 2005; Calinescu *et al.*, 2007; Massicotte *et al.*, 2008), which is not the case with the HAS-cellulose coating. Another purpose of the current study was to extend the usage of CMHAS as multifunctional excipient, its application as an enteric coating and not only as a matrix-forming polymer. The first step of this project was to evaluate the film-forming capacity of CMHAS and the impact of plasticizers (glycerol and sorbitol) on structural and rheological features of the CMHAS cast films. The second step was to apply selected coating formulations on placebo tablet cores using a pan coater and investigate the gastro-resistance of coated tablets

## 6.2 Materials and methods

### 6.2.1 Materials

Reagents – Hylon VII® (~70 % amylose), was a generous gift from Ingredion (Westchester, IL, USA). Lycoat® RS 720 (medium viscosity was gifted by Roquette America Inc. (Keokuk, IA, United States). Sodium monochloroacetate (SMCA), glycerol, iodine, monobasic phosphate, potassium iodine, sorbitol, and the other chemicals were all reagent grade and used as received from Millipore Sigma (Burlington, Massachusetts, USA).

The simulated gastric (SGF) was prepared by adding 7 mL HCl (37% w/w) and 2 g NaCl in 1 L water (as described by the USP-43, NF 38 (United States Pharmacopeia, 2021)). The simulated intestinal fluid (SIF) was made with 6.8 g monobasic potassium phosphate added to 750 mL distilled water and to 77 mL of 0.2 N NaOH. The pH was then adjusted with 0.2 N NaOH to pH 6.8 as described by the USP-43, NF 38 (United States Pharmacopeia, 2021).

The product Opadry® Complete Clear (batch nr TSL135403, hydroxypropylmethyl cellulose 2910 and glycerine, viscosity 6 mPas) and placebo cellulose tablet cores were provided by Colorcon Inc. (Kirkland, Quebec, CA).

### 6.2.2 Starch modification

The obtained derivatives and the procedures are summarized in Table 1. Starch carboxymethylation was done as previously described (Massicotte *et al.*, 2008). Briefly, 140 g HAS were suspended in 340 mL water at 55 °C with a benchtop stirrer. Then, 320 mL of 2M NaOH were added. After 20 min of gelatinization, 70 g of sodium monochloroacetate (SMCA) powder was added. The reaction was continued under agitation for 1 h, cooled, neutralized with acetic acid, and precipitated with aqueous methanol (60% v/v). The precipitate was washed by successive decantations with aqueous methanol (60% v/v) until the conductivity was below 50  $\mu$ S, finally dried with acetone on the filter and then air dried to obtain CMHAS#1 (DS 0.15).

CMHAS-CL10 (DS 0.19) was obtained by a 'slurry' aqueous synthesis by processing 140 g Hylon VII® using half the water (170 mL) in a Hubbart planetary mixer for 20 min. Then, 70 g SMCA were added and allowed to react for 1 h. For cross-linking, 14 g of sodium trimetaphosphate (10 g / 100 g starch) were added and after 40 min, the derivative was washed and dried as described above.

The CMHAS#3 was synthesized as the CMHAS#1 but with a longer gelatinization time (extended to 1h). Corn starch was also carboxymethylated to obtain CMCS and used for comparison.

The degree of substitution (DS) was defined as the number of carboxymethyl groups for each glucose unit (maximum value of 3) and it was determined by the titration method described previously (Labelle *et al.*, 2023). Briefly, the CM-Starch was protonated 30 min in 2M HCl, filtered, washed, dried and titrated with aqueous NaOH. The DS was calculated as described in literature (Stojanović *et al.*, 2005).

Blue Value (BV) test consists of measurements of the absorbance (at 620-640 nm) of an iodine-starch complex and can be related to its capacity to form helices and to the extent of the modifications on the structure. The samples were prepared as previously reported (Nwokocha et Ogunmola, 2014) from 0.1 g dry starch weighed into a boiling tube, 1 ml ethanol (95%) was added followed by 9 ml of 1 M NaOH solution and heated in a boiling water bath for 10 min to solubilize the starch. The starch solution was cooled and quantitatively transferred into a 100 ml standard volumetric flask and the volume made up to 100 ml mark with distilled water. 2.5 ml of starch solution was taken into 50 ml standard flask; 0.5 ml of 1 M acetic acid was added followed by 1 ml of stock iodine (0.2 g I<sub>2</sub> / 2.0 g KI/ 100 ml) and the solution made up to the 50 ml mark with distilled water. The resulting colour was left for 20 min to fully develop before the absorbance reading was monitored at 620 nm with a Perkin-Elmer Lambda 3B double beam UV/ visible spectrophotometer. Iodine solution of the same concentration as above, but without starch

sample, was used in the reference cell. Absorbance spectra of the starch-iodine complex were taken in a quartz cuvette, in triplicate, between 200 and 900 nm with a Libra S50 spectrophotometer (Biochrom US, Holliston, MA, USA).

### 6.2.3 Cast films based on starch derivatives

**Filmogenic CM-Starch solutions** - CM-Starch filmogenic solutions were prepared using 3.5% CMS powder in distilled water and glycerol (G) or sorbitol (S) at different ratios (0, 20, 40g / 100g of starch). After homogenization, the preparations were slightly heated (*i.e.* 5 min in a water bath at 80 °C) and kept under slight agitation until casting. Examples of such formulations are presented in **Table 1**. The average density of all preparations was  $0.99 \pm 0.02$  g/mL. The viscosity was measured at  $25 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$  using an oscillatory viscometer SV-10 (A&D Ltd., Japan) with a small sample adaptor (40 mL). Film conditioning

Chambers were equilibrated with different saturated salt solutions (200 mL) for 1 week and the films were let to stand in the chambers for at least 3 days. The NaI was used for 40 %RH, NaBr for 60 %RH and NaCl for 75 %RH. The films were weighed before and after conditioning to compare their water uptake.

**Film casting** - The cooled 3.5% starch solutions were cast in polystyrene molds and evaporated for 24-48 h (depending on ambient temperature and humidity). Casting 14 mL of a 3.5% starch solution on a surface of  $37.5 \text{ cm}^2$  ( $0.37 \text{ mL/cm}^2$ ) resulted in a film containing about  $0.013 \text{ g starch/cm}^2$ , with an average thickness of 0.1 mm (measured with a digital caliper).

### 6.2.4 Structural and thermal analysis

**Fourier-Transformed Infrared (FTIR)** – The films were analyzed on a Nicolet 6700 spectrometer with the software Omnic (Thermo Fisher Scientific Inc.) and equipped with a smart iTR accessory for attenuated total reflectance (**ATR**). Backgrounds were subtracted for all spectra. The films were placed under the ATR press separately (one layer). The IR region between  $995 \text{ cm}^{-1}$  and  $1044 \text{ cm}^{-1}$  was related to the short-range organization in starch structures (van Soest *et al.*, 1995). The ratios between the absorbances of different bands ( $1044$ ,  $1035$ ,  $1022$  and  $995 \text{ cm}^{-1}$ ) were related to parameters associated to the short-range order and crystallinity. The amount of crystallinity (**AOC**), calculated as the absorbance at  $1044 \text{ cm}^{-1}$  divided by the absorbance at  $1035 \text{ cm}^{-1}$  ( $A_{1044}/A_{1035}$ ), was related to the gelatinization and retrogradation process (van Soest *et al.*, 1995). The crystallinity index (**CI**), obtained by the ratio  $A_{995}/A_{1022}$ , was related to the smectic organization of the helices (Capron *et al.*, 2007).

**X-ray diffraction (XRD)** - The films were fixed with tape to a glass square and the diffractograms were recorded on a Bruker D8, from 5° to 35° (2θ). The spectra were then corrected with a baseline for presentation (fitted with 8 points).

**Thermogravimetric analysis (TGA)** - approximately 3 mg of each sample were analyzed on a TGA Q500 (TA Instruments, New Castle, DE, United States) from 25 °C to 375 °C under nitrogen conditions. The degradation onset was determined by finding the intersection of the slope with the linear part of the curve by forecasting (made with Excel). The water content was estimated by the weight loss recorded at 150 °C (end of the slope). The main peaks of the differential curves (**DTG<sub>max</sub>**) were also reported. The temperature at 50 % weight loss (**T<sub>w50</sub>**) was reported to be representative of the amylose content of starch samples (Stawski, 2008).

#### 6.2.5 Film conditioning

Chambers were equilibrated with different saturated salt solutions (200 mL) for 1 week and the films were let to stand in the chambers for at least 3 days. The NaI was used for 40 %RH, NaBr for 60 %RH and NaCl for 75 %RH. The films were weighed before and after conditioning to compare their water uptake.

#### 6.2.6 Mechanical testing

The tensile strength (**TS**), elongation at break (**E**) and Young's modulus (**YM**) were obtained from a stress/strain curve recorded with a texture analyzer (MultiTest-I single-column force tester from Mecmesin, United Kingdom) linked to a PC running the software Emperor Force. The films were cut in probes of determined length and width: *i.e.* a tested area of 2 cm x 1 cm (1 cm x 1 cm when the TS was too high). A tape was applied at the edges for better adhesion to the holding clamps. The TS (Pa, or N/m<sup>2</sup>) was calculated using the maximum stress point of the stress-strain curve, as  $F_M$  (in N), divided by the cross-sectional area,  $A$  (in m<sup>2</sup>) as in Eq. 6.1 (do Evangelho *et al.*, 2019).

$$TS = \frac{F_M}{A} \quad (\text{Eq. 6.1})$$

For a rectangular film, it is calculated as the height multiplied by the width. The elongation at break (EAB) is the change in distance between the clamps, expressed in percentage, when the film shows failure, holes or is ruptured (Eq. 6.2).

$$EAB = \frac{D_F}{D_I} \times 100 \quad (\text{Eq. 6.2})$$

Young's modulus (mN/mm<sup>2</sup>) was calculated from the slope of the initial linear portion of the stress-strain curve (mN) and divided by the cross-section area of the probe (mm<sup>2</sup>).

#### 6.2.7 Formulations for tablet coatings and process parameters

Some of CM-starch derivatives previously tested under cast film form (Labelle *et al.*, 2023) were selected and formulated with two plasticizers (glycerol and sorbitol) to evaluate their potential as functional coatings for tablets (Table 2). All formulations were prepared in water and the coatings were applied using the same equipment: an OHara Labcoat with 30.5 cm (12 inches) pan and a Schlick S75 sprayer with 0.8 mm nozzle set at 12.7 cm of the tablets. In all runs, placebo core tablets of 325 mg and 10 mm diameter were used with an initial 8 min warm-up at 59 °C, same temperature as inlet. Coated tablets were then dried at 60 °C for 10 minutes.

**Run #1:** The formulation for coating consisted of CMHAS#3 at 3.5% w/w and sorbitol (30% of the polymer weight: S30) which were suspended in distilled water and heated for at least 10 min or until the suspension turned clear. The formulation had 4.5% solids and samples were taken at 3%, 4% and 4.5% weight gain (**WG**) for further tests.

**Run #2, #3 and #4** were all based on CMHAS#1. In run #2 the plasticizer was a combination of sorbitol and glycerol (Table 6.2). The coating formulations were prepared in the same conditions and the process parameters were similar except for run #2 which was carried-out at a pump speed of 6 mL/min instead of 10 mL/min. For run#4, a subcoat (3.5 % weight gain using Opadry 06M190002 clear at 10% concentration) was applied prior to starting the coating with formulation CMHAS#1 and sorbitol. Three types of tablets were used to test coating performances: tablets without logo, tablets with Colorcon logo on one side and tablets with Colorcon name on one side. Samples were taken from 4 to 10% WG at each additional 1% WG for evaluation of enteric behavior.



**Table 6.1 Coating compositions, process parameters and visual observations**

Run #	Name	Sample	Concentration (g/L)	Based on polymer weight (%)	Solids in aq. solution	Viscosity (mPa.s)	Batch size	Spray rate g/min	Max. WG (% w/w)	Observations during coating	Aspect of final tablets
1	CMHAS#3 S30	CMHAS#3 Sorbitol	35 10.5	100 30	4.5 %	1310	0.5kg	8	4.5%	Tablets sticking	Nice, tacky
2	CMHAS#1 G23 S8	CMHAS#1 Glycerol Sorbitol	35 7.9 2.6	100 22.5 7.5	4.5 %	170	0.5kg	6	5%	Good	Slight chipping
3	CMHAS#1 S30	CMHAS#1 Sorbitol	35 10.5	100 30	4.5 %	230	1kg	10	5%	Some sticking	Nice
4	CMHAS#1 S30	CMHAS#1 Sorbitol	50 15	100 30	6.5 %	366	1 kg	10	10%	Subcoat Opadry applied priorly	Nice homogeneous coating

### 6.2.8 Testing of gastro-resistance of the coated tablets

The simulated gastric fluid (SGF) was prepared as per USP, with a final pH of 1.2, without pepsin. The cast films and the coated tablets were placed in 50mL capped tubes filled with SGF and fixed on a rotary agitator at about 50 rpm. The tablets were observed, and the test was stopped when the medium became turbid meaning that the coating was disrupted and the SGF possibly penetrated into the tablet. The tablets that resisted 2 h in SGF were moved into tubes containing simulated intestinal fluid (SIF) and the time of coating opening was recorded. All tests were done in triplicate. Selected dry coated tablets were analyzed by SEM to assess the coating characteristics. To observe the coating homogeneity, the tablets were also immersed in 40mL SGF containing 2mL of Lugol's reagent (10g KI and 5g I<sub>2</sub> in 100mL water).

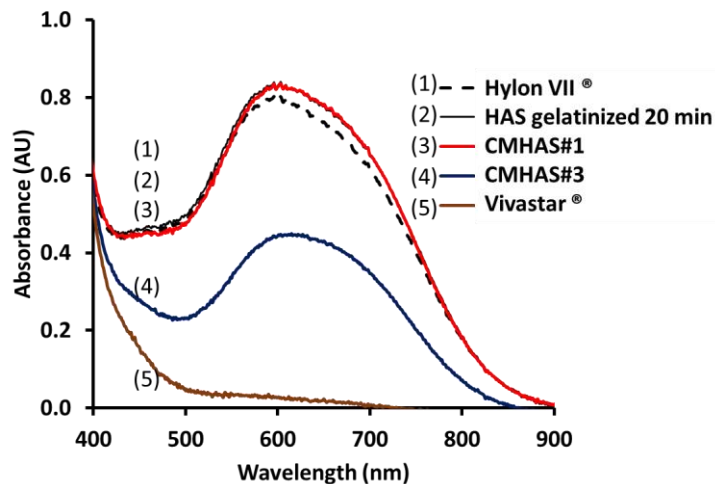
### 6.2.9 Scanning electron microscopy (SEM)

The coated tablets (half cross-section cut) were fixed on a two-side sticker and micrographs were taken using a Hitachi S-3400N type II microscope (High Technologies America, Pleasanton, CA, USA).

## 6.3 Results and discussion

For this study, we were interested in finding the appropriate CMHAS derivative for an enteric coating formulation and be able to apply a homogeneous coating on tablets. The choice of the CMS coating materials was based on the behaviour of their cast films in simulated fluids. The two selected CMS derivatives (CMHAS#1 and CMHAS#3) formed films that were not swelling due to the low degree of substitution (DS 0.15). Swelling was observed above a DS of 0.3.

It was of interest to follow the modifications of polysaccharidic chains induced by physical (gelatinization) and by chemical processing. The iodine complexation capacity with starch derivatives allows to observe changes in length of the chains/mass (Man *et al.*, 2014). The height of the absorbance curves obtained for the starch-iodine complexes prepared for this study (Fig. 1) have shown that the CMHAS#1, with 20 min gelatinization in aqueous NaOH, had similar amylose chain length as Hylon VII® and as the gelatinized HAS (control). Differently, the CMHAS#3, with 1h gelatinization in aqueous NaOH prior to carboxymethylation, showed half the iodine binding capacity. As explanation, the longer NaOH treatment may have affected the length or damaged the chains. The extent of gelatinization has a certain impact on the solubility. It may be due to disorganization or shortened chains. With our material, the presence of functional groups will also hinder the reorganization of chains in helix form. It was reported that the presence of amylose was increasing film cohesiveness. We focused on this aspect to produce strong films by using a high amylose ratio and maintaining their integrity.

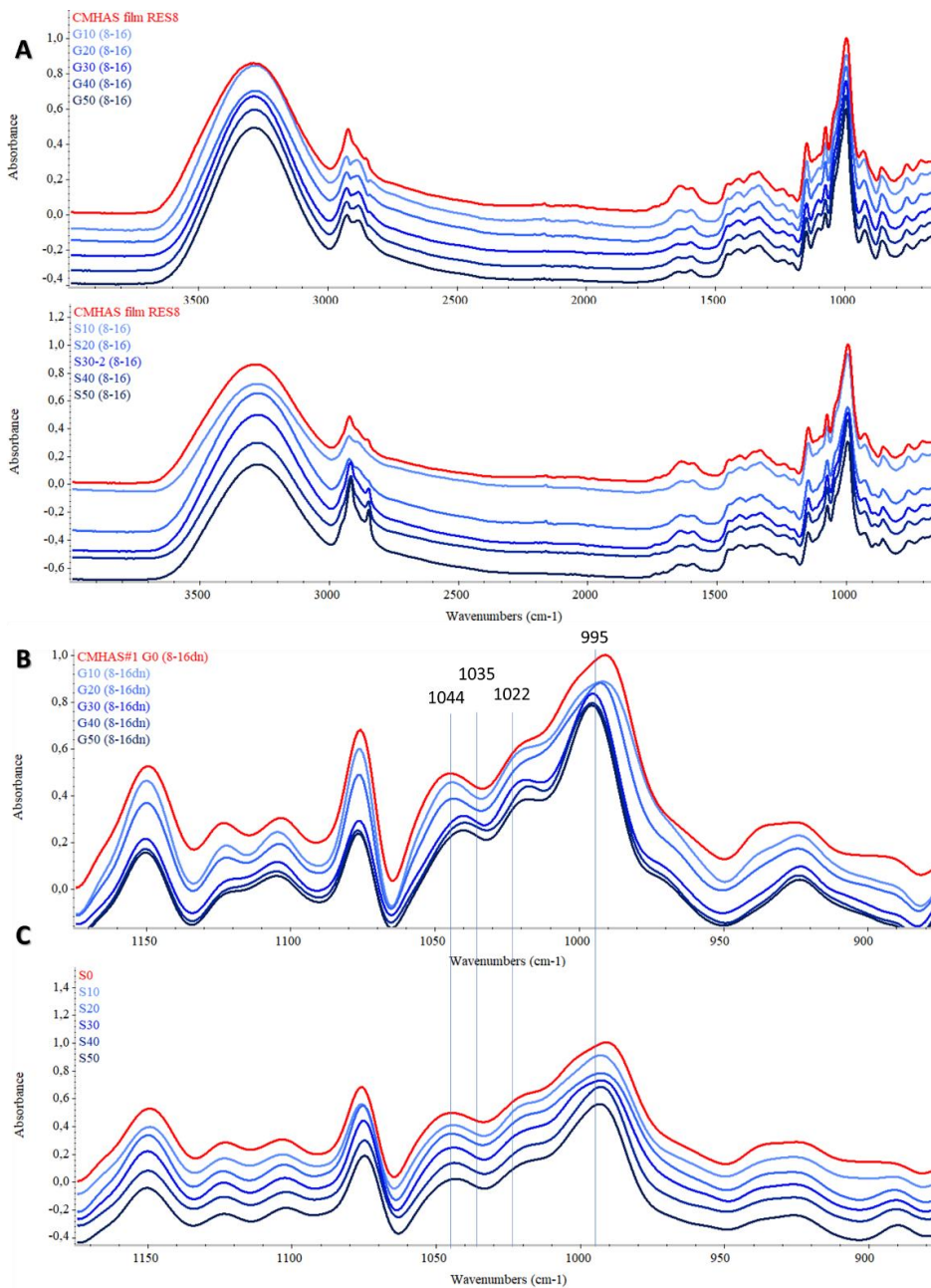


**Figure 6.1** Blue value test - absorbance of the starch derivative iodine complexes in aqueous solutions.

### 6.3.1 Starch organization in cast films

**Effect of the plasticizer reflected on FTIR and X-ray spectra** - The more marked changes were at the 1044  $\text{cm}^{-1}$  band, suggesting that the plasticizers impacted the starch reorganization (Fig. 6.2A). From the deconvoluted spectra (Fig. 6.2B, C), it can be seen that the addition of sorbitol has a low impact on the starch structure (Fig. 6.2B) but glycerol, at a ratio of G20, induced a change (Fig. 6.2C) probably associated to a faster retrogradation, more evident at G40.

The order ratio (1044/1022) was lower in the presence of glycerol, suggesting a more amorphous organization (Table 6.3). The amount of crystallinity (**AOC**) and the crystallinity index (**CI**), which latter can be related to the crystal size, were both lower for the films with glycerol (Table 6.3).



**Figure 6.2** FTIR spectra (A) and deconvolution for the range 1100-900 cm<sup>-1</sup> of cast films based on CMHAS#1 plasticized with (B) Glycerol (G0 to G50) or (C) Sorbitol (S0 to S50).

X-ray diffraction (XRD). The films of starch derivative without plasticizers analyzed in a previous report (Labelle *et al.*, 2023) showed low crystallinity. When plasticizers were added, the organization was changed and the morphology of the CMHAS#3 film containing G40 is shown in Fig. 6.S1A. While the V-type intensities were decreased, the B-type peaks (related to amylopectin) were markedly increased. The plasticizer created more freedom for the backbone of amylopectin to reorganize. The glycerol, being smaller and more mobile, could form more hydrogen bonding with the starch chains, allowing them to reorganize easily.

**Table 6.2 FTIR structural parameters for the starch films with plasticizer**

Plasticizer	Order ratio	Amount of crystallinity (AOC)	Crystallinity index (CI)
<b>Sorbitol %</b>	<b>1044/1022</b>	<b>1044/1035</b>	<b>995/1022</b>
0	0.81	1.16	1.64
10	0.78	1.19	1.57
20	0.83	1.17	1.48
30	0.84	1.20	1.63
40	0.80	1.22	1.78
50	0.82	1.19	1.77
<b>Glycerol %</b>	<b>1044/1022</b>	<b>1044/1035</b>	<b>995/1022</b>
0	0.81	1.16	1.64
10	0.81	1.14	1.43
20	0.78	1.12	1.55
30	0.76	1.09	1.59
40	0.76	1.07	1.56
50	0.78	1.10	1.68

### 6.3.2 Water presence in CMHAS cast films

The water content of the cast films was already reported (Labelle *et al.*, 2023). The change in weight after conditioning was lower (8-9%) than for the corresponding powders (9-10%) due to a larger surface for moisture absorption. The films represent polymeric networks stabilized by hydrogen bonds between hydroxyl groups of starch chains, of the plasticizer and of the water. The plasticizers were both polyols that could form multiple hydrogen bonds with the starch, and thus hindering the accessibility of water molecules to polysaccharides chains.

From TGA and DTG analysis it was possible to separate the process of dehydration of films of CMHAS#3 from that of their degradation (Fig. 6.S1B and Table 6.S1). The films with G20 were more stable to thermal

degradation than the films with G40. Differently, with S40, the degradation temperature was the same as without plasticizer, meaning that films with sorbitol at high concentrations can be thermally stable.

These findings could be related to the mobility of the plasticizers having an impact on the reorganization of polymer chains and on their mechanical properties. Lycoat<sup>®</sup>, a hydroxypropylated starch, was reported in literature as starch modified with alkyl groups. It shows an increase in the degradation temperature and of the DTG<sub>max</sub> related to acetylation and hydroxypropylation (Liu *et al.*, 2013).

For the current study, as shown by the TGA, the film with 40 % sorbitol had the same water content (8-9 %) as the other films without plasticizer. The final weight was related to the plasticizer content. The formulation with S40 was very stable and had a markedly different behavior compared to that with G40.

**Moisture absorption in films with plasticizer** - At 40 % and 60 % RH, the water content of the films with plasticizers was close to that of the films without plasticizers (Table 6.S1 and Fig. 6.S1B). These data fit well with previous reports showing low effects below 20 % plasticizer (Godbillot *et al.*, 2006). The difference between 60 % and 75 % RH was remarkable, suggesting that in presence of plasticizer, the RH has a great impact on the starch structural organization.

Less impact was found between 40 and 60%RH. This may be because the plasticizers are more soluble than the HAS derivatives. With 20% or less plasticizer, the hydrophilicity did not increase; the starch water content was about the same up until 60% RH. It seems that these HAS derivatives have low hydrophilicity. At low relative moisture (RH), the water vapor does not prefer to bind with starch and its water content does not increase.

At 40% plasticizer, the water content increased, even at low RH. This may be due to the plasticizers preventing starch-starch interactions and exposing their own hydroxyl sites available for moisture binding.

### 6.3.3 Rheological studies

The mechanical properties of the films were compared at different RH values and plasticizer contents (Fig. 6.S2). Generally, the plasticizers are added to enhance the mechanical strength of the polymers. They have also an important contribution to reduce the rigidity of the films by weakening the intermolecular forces and the interactions between polymeric chains, and improving thus the coalescence properties (Ahmed *et*

*al.*, 2020). Films obtained using G20, G40, S20 and S40 were flat and more flexible than those without plasticizer. It was found that the plasticizers-moisture relationship had an important impact on the mechanical properties of the films, also affecting their drying speed.

**Elongation at break (EAB)** When glycerol content was increased to 40 %, **the EAB increased a little for CMHAS#1 and CMHAS#3 (30-54 %) and more for CMCS (90 %) and for CMHAS-CL (200%). Formulations with G20 and S20 showed negligible changes in EAB, whereas for those with G40 or S40, the EAB values were high**, close to those reported for starch films with **G50 (124 %)** (Luchese *et al.*, 2017).

**Young's modulus (YM)** is related to the rigidity of the films. The higher the value, the stiffer the film. Our values ranged between 0.25 (40 % glycerol, 75 % RH) and 48 MPa (0 % glycerol, 40 % RH) being close to YM values between 12-48 MPa in literature (Luchese *et al.*, 2017).

There were no clear differences between CMHAS#1 and CMHAS#3, in terms of TS values for all plasticizer concentrations, but TS was higher for the cross-linked CMHAS-CL10 material. At 0 % and 40 % plasticizer, moisture had little effect on the film properties. At 20 % plasticizer, a marked change occurred with increasing of the RH that was not observed at 0 or 40 % plasticizer meaning that the mechanical properties of the G20 formulation are more dependent on the RH. At 40 % plasticizer, a distinct effect was observed for films that were more amorphous conducting to a higher EAB, whereas TS and YM were lower. For most samples, the water uptake was doubled from 0 % to 40 % plasticizer.

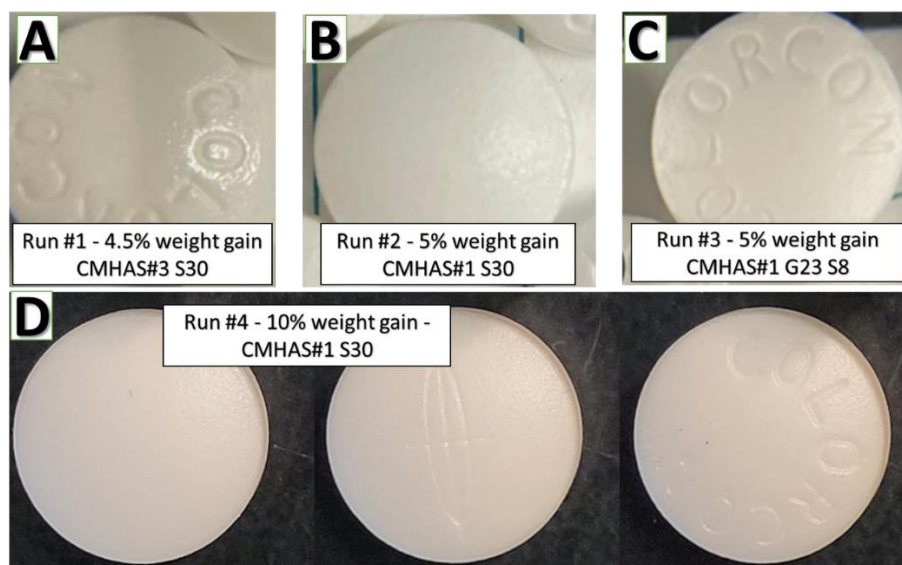
Sorbitol seems less affected by the moisture and was selected for further coating runs, even though glycerol is a better plasticizer than sorbitol for increasing EAB.

#### 6.3.4 Coating formulations and process

The preliminary initial formulations were designed considering the ingredients and proportions currently used in some commercial coating products and contained a plasticizer (triethylcitrate, TEC), an opacifier (TiO<sub>2</sub>) and an anti tacking agent (talc). The aim was to evaluate the behavior of CM-starch derivatives in comparison with similar aqueous coating material already commercially available. CMHAS-CL and CMCS exhibited good elasticity in cast films and they were considered for the preliminary trials (data not shown). Due to sticking observed on the back of coating pan, the edge erosion, logo bridging (the coating peeling away from the logo making it less visible) and peeling of the coating, this approach was not continued.

Therefore, the following formulations consisted only in CM-starch derivatives and plasticizers aiming to evaluate coating performance in terms of processing and gastro-resistance.

When CMHAS#3 was associated with sorbitol (S30), an important sticking was observed on the wall of the pan and the process was stopped at about 4.5 % weight gain (Table 6.2 and Fig 6.3, run #1). Coated tablets were tested in SGF, and the films resisted between 30 min and 1 h. The CMHAS#1 with a combination of plasticizers (G+S) led to a smoother film coating (Fig. 6.3C, Run #3).



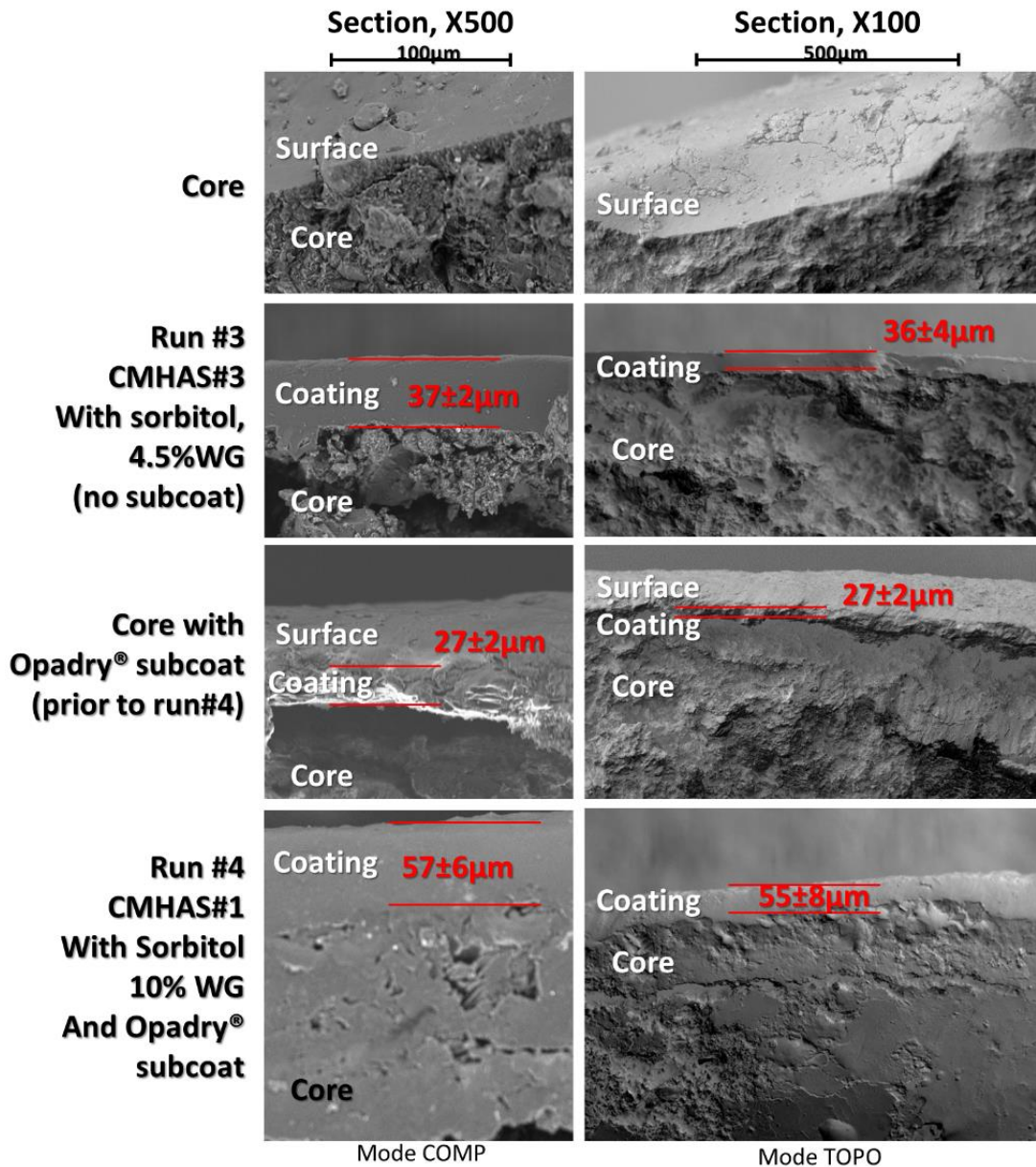
**Figure 6.3** Aspect of coated tablets from runs #1-4 (A-D).

Core and coated tablets have been analyzed by SEM (Fig. 6.4). Tablets obtained with CMHAS#3 at a 4.5% WG (run#3) had a coating evaluated at  $36 \pm 4 \mu\text{m}$  thickness whereas those set at a weight gain of 10 % (run#4) presented, as expected, a thicker coating of  $55 \pm 8 \mu\text{m}$ . The subcoat was thin ( $27 \pm 2 \mu\text{m}$ ) and made of cellulose derivatives, the same as the core.

Hence, it appears hardly visible under the CMHAS coating. Differently, the micrographs of CMHAS, containing sodium ions, were contrasted, showing structural differences between the granulous core and the denser and more homogeneous coating phases.

Two other runs were performed with the same formulations CMHAS#1-S30 (CMHAS#1 76%: sorbitol 23%) using the same coating parameters and the same batch size (1 kg.) The run #2 at WG 5% generated nice,

coated tablets that have shown good performance when tested for enteric properties. It was found that 60% of tablets resisted for 2 h in SGF and opened after 15 min after being moved in SIF. The other 40% kept the film resistance in acidic medium for 1h30min (Table 6.4).



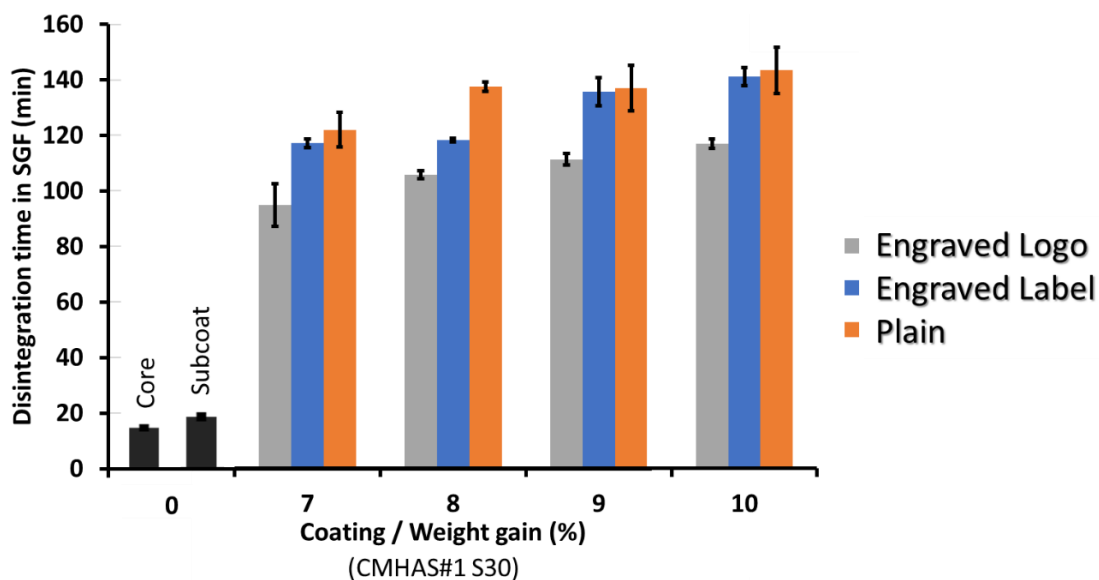
**Figure 6.4** Micrographs of the core and various coatings for runs 1 and 4, cross-section : Mode COMP, based on atomic mass (left, magnification x500) and Mode TOPO, based on topography (right, magnification x100).



Considering that the latter coating formulation generated tablets with good aspect, the next objective was to evaluate and to improve gastro-resistance. When the same formulation (Run#4 in Table 6.2) was applied on the tablets first coated with passive subcoating (Opadry®), no sticking or edge peeling were observed during the coating process and a satisfactory film coating was obtained (Fig. 6.3). Starting with 7 % WG, the tablets having a logo resisted in SGF for 1h30min -1h45min while at 9 % - 10 % WG, tablets with an engraved mark or plain surface remained unchanged for more than 2h in SGF (Fig. 6.5).

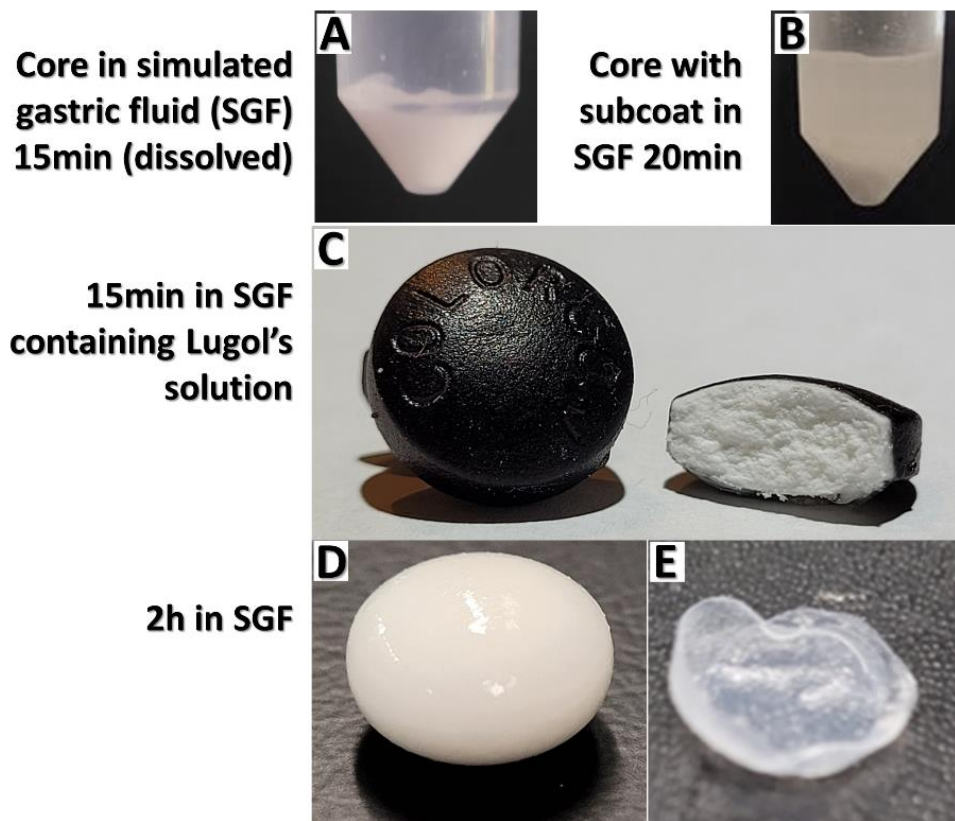
**Table 6.3 Disintegration time of the coated tablets in simulated gastric fluid (SGF)**

Run	Coating composition	WG	Disintegration time in SGF
1	CMHAS#3 (3.5%), S30	4.5%	30min - 1h15 in SGF
2	CMHAS#1 (3.5%), S30	5.0 %	40% Tablets resisted 1h30 in SGF 60% Tablets resisted 2h in SGF followed by 15min in SIF
3	CMHAS#1 (3.5%), G20S10	5.0 %	All tablets cracked after 9min. All dissolved after 23min in SGF.
4	Core with Opadry® subcoat. Coated with CMHAS#1 (5%), S30	6-10%	Completely dissolved in 20min. Tablets resisted 1h45-2h30 in SGF (Fig. 6)



**Figure 6.5 Disintegration times in simulated gastric fluid (SGF, pH 1.2) of the uncoated and coated tablets of run#4 in relation to the absence or presence of a logo or of writings on the tablets.**

The coating was disrupted after 2h in SGF followed by 45 min in SIF, when tablets were hydrated and completely disintegrated. For the CMHAS#1 coatings (runs #2-4), the coating was recuperated at the end of the testing in SGF and SIF as a transparent membrane (Fig. 6.6F). For coated tablets with logo at a WG of 7 %, the gastro-resistance was around 90 min whereas a required time of 2 h (recommended by regulatory organizations) was reached for tablets having one side with engraved mark or logo. Uncoated placebo cores used for all trials were completely disintegrated in SGF after 5 min when tested in the same conditions (Fig. 6.5).



**Figure 6.6** Uncoated tablets (Cores) after immersion for 15min in SGF (A); Cores coated with subcoat only after immersion in SGF (B); Coated tablets (CMHAS#1 S30, 10%WG, run #4) after immersion in SGF containing Lugol solution (C). Coated tablets (CMHAS#1 S30, 10%WG, run #4) after immersion for 2h in SGF (D) and the remaining shell (E);

An important aspect to evaluate was the integrity of the CM-Starch film as coating material in SGF. It was previously shown that CM-Starch maintains the V-structure able to retain iodine ( $I_2$ ) forming inclusion (clathrate) compounds (Friciu *et al.*, 2013). This is why we have immersed tablets coated with CMHAS#1

in SGF containing iodine (Lugol reagent). It appeared that the iodine-stained coating was homogenous proving the integrity of the coating material, even for tablets carrying logo or engraved label well visible (**Fig. 6A**). Furthermore, it was found that cross-sectioned core tablets were dry in the center, suggesting that the CM-Starch coating was able to afford gastric protection of coated tablets. Also, it appeared that the iodine-dyeing can be a good method to evaluate the integrity of starch-based coating materials.

As far as protection against stomach acidity, it was previously showed that in SGF, monolithic tablets based on CM-Starch afford a good gastro-resistance due to the protonation of carboxylic groups that generates compacts outer layers and prevents acidic fluid entering the tablets. When protonated (acidic pH), the carboxylic acid can form dimers and is less soluble. When ionized (neutral or basic pH), the carboxylate is formed and the solubility increases.

### 6.3.5 Efficiency of plasticizers

**Comparison of glycerol with sorbitol** - Densities of starch filmogenic preparations with glycerol or sorbitol were similar (Müller *et al.*, 2008a), meaning that they may induce the same organization, distancing similarly the chains and being involved in forming hydrogen bridges. This may impact the EAB since the chains could unwind and extend and thus play a role in hydration of films increasing the moisture retention. The slightly lower performance of glycerol compared to sorbitol at high RH may be caused by phase separation, since glycerol is more hygroscopic (Müller *et al.*, 2008a). At lower RH, with only a limited water content present in the films, the phase separation could not occur. It was reported that at above 58 %RH and 17 % glycerol (based on starch weight), phase separation began (Godbillot *et al.*, 2006). It was also found that the minimal water content in starch films with 10-20 % plasticizer was reached at 60 %RH (Lourdin *et al.*, 1997). This could explain the lower elongation of cast CMHAS films at high RH. From this perspective, it can be concluded that plasticizer type and its concentration could reduce the tensile strength of the films by reducing the interactions between starch chains.

### **Impact of plasticizers on starch reorganization and pH-dependency of cast films**

The XRD, TGA and FTIR showed some difference between the film made of CMHAS#1-G40 and the other films. By XRD, the crystallinity of the plasticizer-free film of CMHAS#3 was found lower than that of films containing 40 % glycerol. With a smaller size, glycerol can act as a lubricant, enhancing the flexibility of chains and allowing them to become closer each other (during the evaporation process) thus favoring

hydrogen bonding. This explains a higher stability and crystallinity, which were not desired. For coating purpose, we thought of minimizing the reorganization to reduce the risk of film cracking. Glycerol seemed to increase crystallinity and hence was discarded. This is not the case of sorbitol with a larger molecule size, hindering the hydrogen association between chains (plenty of hydroxyl groups able to generate H-associations). H-bond hindering was wanted, to minimize reorganization (retrogradation), and the risk of defects on the coatings.

### **Impact of plasticizers and coating parameters on the coatings**

When triethylcitrate was used at 8% (and with talc), the coatings based on CMHAS-CL10 and CMCS peeled and didn't adhere to the core (data not reported). With CMHAS#3 (obtained after a longer gelatinization time in NaOH during the modification) and with sorbitol (trial #2) at a weight gain of 4.5%, the films adhered on the tablets but were not homogeneous, resulting in a rapid disintegration time in SGF (starting at 30 min).

When triethylcitrate was used at 8% of dry weight (and with talc), the coatings based on CMHAS-CL10 and CMCS peeled and didn't adhere to the core (data not reported). With CMHAS#3 (obtained after a longer gelatinization time in NaOH during the modification) and with sorbitol (run #2) at a weight gain of 4.5%, the films adhered to the tablets but were not homogeneous, resulting in a rapid disintegration time in SGF (starting at 30 min).

In a previous work, it was shown that CMHAS#1 (with a shorter gelatinization time in NaOH prior to the chemical modification), retained a partial crystallinity (Labelle *et al.*, 2023). The coatings based on CMHAS#1 were more homogeneous (run#2-4). A mix of glycerol and sorbitol was used to increase the flexibility of the films and thus the homogeneity (Run#2), but the coatings were still showing defects.

Using only sorbitol and batch size increased to 1 kg (run#3), a nice coating was obtained, but the disintegration time in SGF was around 105 min, suggesting the need of an increase of the weight gain.

To minimize chipping, a subcoat of Opadry® was applied. Opadry® subcoating and modified starches can absorb moisture, that may accumulate in little bubbles between the coating and the core surface. At embossed locations as a relief logo, due to the contraction of the coating during drying, the risk of minor defects is higher. Indeed, the coatings with filmogenic 4.5% CM-starch applied on cores with logos failed

at the location of the logos whereas the coatings on other tablet-cores were fractured more on the edges. When the concentration in solids in the filmogenic solution was increased from 4.5% to 6.5% and the final weight gain was increased to 10%, most of the coated tablets resisted at least 2h in SGF.

#### 6.4 Conclusions

To the best of our knowledge, this study was the first showing the use of CM-Starch derivatives as functional coatings and the CM-Starch film exhibited a good gastro-resistance of 2h in SGF. Then, in SIF, this responsive and enzyme-sensitive (alpha-amylase) coating was broken, releasing the core-tablet. Worth mentioning, the described CM-Starch coatings didn't require the addition of another polymer (*e.g.* ethylcellulose) to promote disintegration in SIF and its mechanism is based on protonation/deprotonation switch depending on acidic or neutral pH.

We easily processed in aqueous phase appreciable lab-size batches with simple equipment (a benchtop stirrer head with a Jiffy® stirrer shaft). Modification of starch in aqueous solution is an advantage compared to most starch modifications that are made in organic solvents. The carboxymethylation using sodium monochloroacetate (SMCA) is mainly operated in organic solvent, as for the commercial product Vivastar®, a carboxymethyl potato starch derivative used as tablet superdisintegrant (also called sodium starch glycolate, SSG) and produced at large scale. The carboxymethylation process appears easy to operate in aqueous solutions and the scalability feasible.

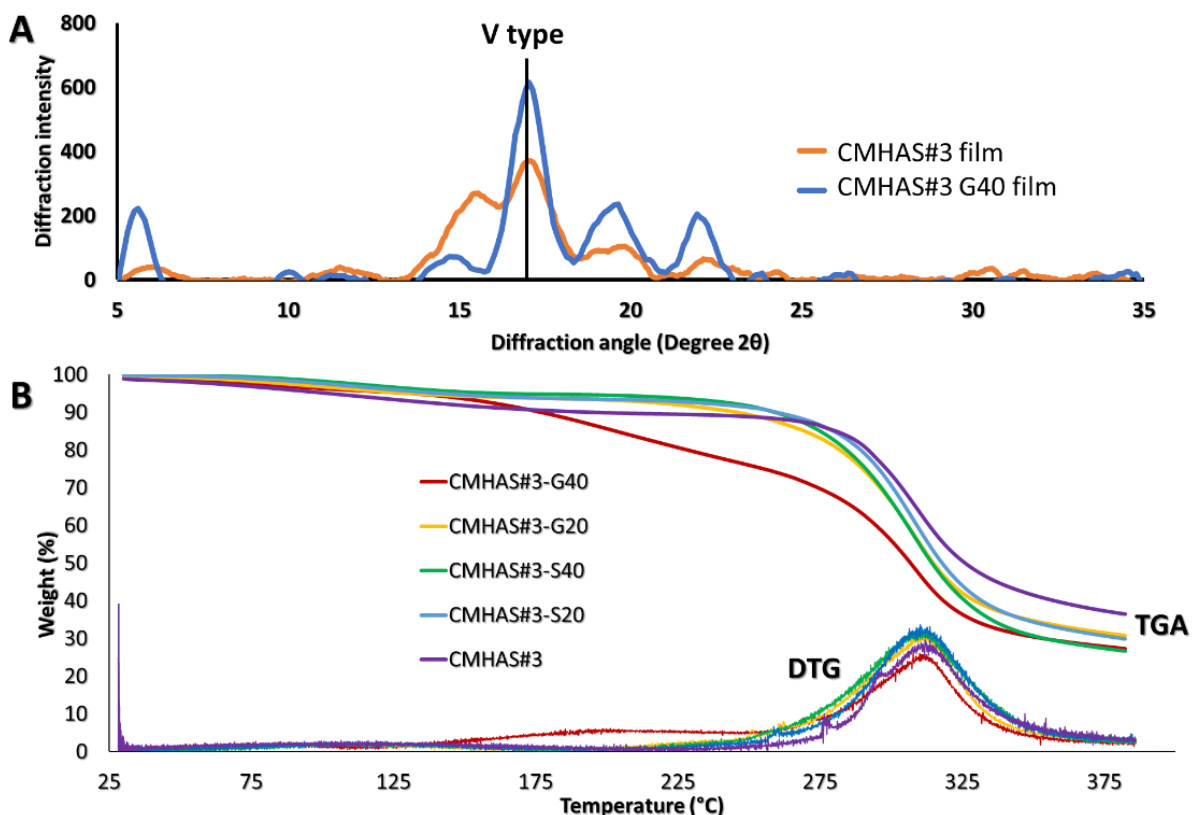
Our coating formulation is water-based and safe, advantageous over cellulose acetate phthalate. It is from natural source, an advantage over Eudragit®. Compared to other HAS-based coatings, it was not necessary to use another polymer to adjust the delivery time. We can define our coating as a functional pH-dependent coating, obtained from natural source, by an aqueous procedure. The pH-dependency and susceptible to  $\alpha$ -amylase in combination of other features make this a unique material.

Another important feature of the proposed CM-starch coating is coming from the aqueous process of HAS modification resulting in a special organization of the starch chains. The high amylose to amylopectin ratio contributes to reduce the film solubility and increased its strength, which are key functionalities for enteric tablet coatings. It is also noteworthy that modified HAS have lower viscosities than potato and corn starch, allowing an easier casting of films and coating application. The gelatinization time of HAS (first step allowing starch physical modifications) had an important impact on the polymer solubility and preparation

of homogeneous filmogenic solutions. Additional characteristics were acquired by wise usage of plasticizers considering that the glycerol and sorbitol had different effects on the physical and mechanical properties of the films. With glycerol, due to its hygroscopic features, the films may become sticky. Sorbitol was the preferred plasticizer for the coating due to its less moisture absorbance and the films dried faster than those with glycerol. More studies are required to evaluate other aspects of films based on CM-starch derivatives and promote them for applications in pharmaceutical industry.

**Acknowledgements:** This study was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, grant number 06919) and by the Courtois Foundation, Canada. The authors want to thank Intelgenx Inc. for the kind help in rheology tests. Thanks are also due to Mrs Salma Tajer for her help in SEM experiments. The kind supply of HAS by Ingredion is gratefully acknowledged.

### Supplementary material



**Figure 6.S1: Analysis of cast films: (A) diffractograms of the CMHAS#3 film without or with 40 % glycerol and (B) thermograms of CMHAS#3 films with 0, 20 or 40% glycerol or sorbitol.**

Table 6.S1 - Analysis of the films using TGA.

Starch films	Water (%)	W <sub>final</sub> (%)	Onset (°C)	DTG peak (°C)	DTG shoulder (°C)
CMHAS#3	8.3	41.5	286.0	310.3	294.0 275.6
CMHAS-CL10	7.9	42.2	286.9	308.0	-
CMCS	8.7	39.8	286.5	311.3	292.6
<b>Addition of plasticizer</b>					
CMHAS#3	8.3	41.5	286.0	310.3	294.0 275.6
CMHAS#3-G20	5.7	34.7	275.5	308.8	-
CMHAS#3-G40	6.5	30.4	279.2 164.9	308.4	193.7
CMHAS#3-S20	5.4	34.4	281.0	307.9	258.0
CMHAS#3-S40	4.7	30.7	275.2	307.9	-

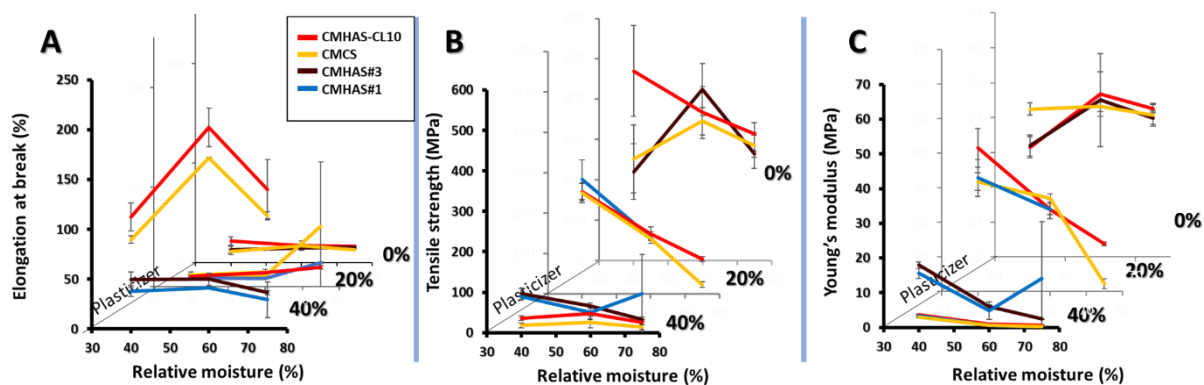


Figure 6.S2 – Mechanical parameters of the conditioned films, extracted from the stress-strain curves at different relative moisture and plasticizer content: A- elongation at break (E); B- tensile strength (TS); C- Young's modulus (YM).

## CHAPITRE 7

### DISCUSSION GÉNÉRALE

Différents amidons modifiés ont été synthétisés et comparés sous des formes de poudres, comprimés, films et enrobages.

#### 7.1 Modification de l'amidon

##### 7.1.1 Paramètres et rendements de carboxyméthylation

Le degré de substitution (DS) est défini comme le nombre de groupement carboxyméthyle par unité de glucose (maximum 3). Afin de comprendre les paramètres influençant le DS, diverses synthèses sont résumées au **tableau 7.1**. Des DS allant jusqu'à 0.34 ont donc été obtenus en phase aqueuse, malgré que certains auteurs ont récemment rapporté une limite de DS 0.07 en phase aqueuse (Pooresmaeil et Namazi, 2021). Le produit synthétisé CMHAS#2 avait un DS de 0.34, presque le même que Vivastar® avec 0.39 (modification en phase organique).

##### 7.1.2 Comparaison des méthodes pour l'ajout du réactif SMCA pour la carboxyméthylation

Les méthodes d'ajout du réactif monochloroacétate de sodium (SMCA) (ou l'acide monochloroacétique AMCA) semblaient varier dans la littérature. Les publications du tableau 7.1 ont toutes utilisé le réactif dissout. Les DS, les méthodes de protonation, de titration et de lavage ainsi que les temps de dissolution des comprimés semblaient aussi varier. Le SMCA serait réactif avec l'eau. Différents paramètres pourraient influencer le rendement comme la dissolution du réactif et la vitesse d'ajout du réactif.

Les synthèses organiques trouvées utilisaient le SMCA en poudre : (Heinze *et al.*, 1999; Kittipongpatana et Kittipongpatana, 2015; Lawal *et al.*, 2007; Lawal *et al.*, 2008; Lawal *et al.*, 2009; Lemieux *et al.*, 2009; Sangseethong *et al.*, 2005; Tüting *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2010; Wilpiszewska *et al.*, 2015). Plus de 25 publications de synthèses organiques ont été facilement trouvées. Les DS, en moyenne, étaient entre 0.3-0.6 mais pouvant aller facilement jusqu'à 1, atteignant des rendements près de 100%.



**Tableau 7.1 Résumé de la protonation et de la détermination du DS de plusieurs CMARA fabriqués à l'UQAM**

Synthèses aqueuses	Amidon : Eau : NaOH	Ratio réactif/AGU (mol/mol)	Ajout du réactif	Protoné/Lavé	DS (titration)	Rendements (%)	Application
<b>Réactif ajouté dilué</b>							
(Mulhbachter <i>et al.</i> , 2001)	1:59:0.9	0.2, 1.9 (A)	Aq	Non / -	0.12, 0.72 (D)	60, 38	Pharm.
(Calinescu <i>et al.</i> , 2005)	1:59:3.6	0.1, 1.3, 1.9 (A)	Aq	Oui / pH 7 (eau)	0.02, 0.11, 0.22 (D)	20, 8, 11	Pharm.
(Calinescu <i>et al.</i> , 2007)	1:59:2.3	1.3 (A)	Aq	Oui / Eau	0.3	23	Pharm.
(Massicotte <i>et al.</i> , 2008)	1:51:2.1	1.0 (A)	Aq	Oui / Eau	0.15	15	Pharm.
(Lemieux <i>et al.</i> , 2010)	1:59:0.9	0.2-1.4 (A)	Aq	Oui / Acétone	0.03-0.25 (B)	15, 18	Pharm.
(Assaad <i>et al.</i> , 2011)	1:65:2.4	1.3 (A)	Aq	n.d.	0.14	11	Pharm.
(Calinescu <i>et al.</i> , 2012)	1:59:2.3	1.3 (A)	Aq	Lav. répétés	0.126 (D)	10	Pharm.
(Friciu <i>et al.</i> , 2013)	1:59:0.9	0.9 (S)	Aq	n.d.	0.17	19	Pharm.
(Blemur <i>et al.</i> , 2016)	1:60:2.3	0.6 (S)	Aq	Oui / 15 µS	0.2 (B)	33	Pharm.
(Le Tien et Mateescu, 2017)	1:102:6.6	2.4 (S)	Aq	Oui / Lav. répétés	0.2 (D)	8	Pharm.
(Sakeer <i>et al.</i> , 2018)	1 :102 :10	1.2 (S)	Aq	Non / 75 µS	0.04 (B)	0.03	Pharm.
<b>Réactif ajouté en poudre</b>							
(Assaad et Mateescu, 2010)	1:59:1.5	0.8-2.3 (S)	Poudre	Oui / 15 µS	0.07-0.20 (B)	9, 9	Pharm

**D = Titrage direct, B = Titrage inverse (Back titration), A = Acide monochloracétique, S = Sel de SMCA, monochloracétate de sodium, AGU = unité anhydroglucose.**

### 7.1.3 Impact des modifications sur la structure de l'ARA

L'impact de la méthode de séchage a été discuté au chapitre 2. Il a été vu au chapitre 5 que le temps de gélatinisation et les conditions (en phase aqueuse neutre ou alcaline) avaient un impact sur la cristallinité. La méthode de précipitation par solvant donne des particules sans forme particulière. Tous les dérivés synthétisés avaient une structure désordonnée au MEB, contrairement à Vivastar® qui était bien granulaire.

Toutefois, le CMHAS#3, avec un temps de gélatinisation de 1h (dans du NaOH aqueux) avait encore de la cristallinité résiduelle tandis que l'AECMHAS et le TMACMHAS-CL étaient complètement amorphes. D'ailleurs les films correspondants étaient bien plats et flexibles sans plastifiants (mais pas élastiques).

## 7.2 Les films d'amidon

### 7.2.1 Les films à 100 % de dérivés d'amidon

Les dérivés d'amidon synthétisés étaient visqueux en solution. Une concentration de 3.5 % a été utilisée pour tous les dérivés synthétisés en vue d'obtenir des solutions filmogènes. Dans la littérature, la concentration variait entre 1 % et 4 % pour les amidons non hydrolysés (Forssell *et al.*, 2002; Mali *et al.*, 2006). Lorsque les solutions filmogènes ont été utilisées sans chauffage, seulement les matériaux amorphes ont donné des films uniformes, plats et flexibles.

Les matériaux avec de la cristallinité résiduelle rétrogradent fortement et les films craquent. Ce qui signifie que même pour l'ARA qui contient peu d'amylopectine, la présence de l'amylopectine demeure un facteur déterminant influençant l'intégrité des films.

Les films obtenus de matériaux amorphes formaient un gel dans le SGF. La cristallinité résiduelle pourrait donc être un signe annonçant une possible rétrogradation et une moindre solubilité.

Lorsque les solutions filmogènes ont été chauffées dans l'eau bouillante 30 min, les films étaient plus plats et moins craqués. Bouillir l'ARA semble avoir eu un effet sur l'organisation de l'amylopectine.

Les films obtenus en utilisant des solutions qui ont nécessité du chauffage étaient insolubles et moins flexibles. Le traitement hydrothermique a un effet sur l'amylopectine et prévient la rétrogradation mais n'augmente pas la solubilité du film.

Même sans plastifiant, les propriétés filmogènes de l'ARA ont été améliorées par des diverses modifications ioniques. L'ARA natif nécessite un traitement à l'autoclave pour gélatiser car l'amylose est moins soluble et la structure amorphe du grain est très désordonnée mais très dense. Contrairement à un cristal d'amylopectine qui se désorganise rapidement, les hélices d'amylose agissent indépendamment et sont incrustées dans les différentes couches du grain, empêchant la pénétration de l'eau. En comparaison à l'ARA natif, les dérivés d'ARA nécessitaient seulement un chauffage léger, comme quoi la présence des groupes CM augmente la solubilité, même à un faible DS (*e.g.* 0.15).

Les films d'amidon de maïs modifié s'hydrataient plus que ceux d'ARA modifié. Cela est dû au pourcentage d'amylopectine qui est plus grand dans l'amidon de maïs. L'amylopectine avec ses chaînes terminales

courtes (et doubles hélices), s'hydrate plus facilement, tandis que l'amylose forme des hélices simples qui sont moins hydrophiles.

Les films d'amidon de pomme de terre modifié étaient dissouts instantanément. L'amidon de pomme de terre possède des cristaux de type B, beaucoup d'amylopectine et plus d'eau que les autres amidons. Toutefois, les solutions filmogènes d'amidon de pomme de terre étaient trop visqueuses. C'est parce que les amylopectines des amidons types B ont des chaînes intermédiaires plus longues (Bertoft *et al.*, 2008) et que les grains d'amidon de pomme de terre sont très gros, ils ont donc plus de chaînes et une plus grande masse moléculaire (Tester *et al.*, 2004).

Le ratio amylose/amylopectine et le type d'amidon (maïs, pomme de terre, ARA) ont donc eu un impact important sur le procédé de formation des films (viscosité) et sur les propriétés finales des films (solubilité).

#### 7.2.2 Les films d'amidon avec plastifiant

En présence de plastifiant, la flexibilité des films variait avec l'humidité au laboratoire. Ils ont donc été conditionnés à différents taux d'humidité contrôlés pour comparer leurs propriétés mécaniques. Les films à 0 %, 20 % et 40 % de plastifiant (glycérol) ont été équilibrés à 40 %, 60 % et 75 % d'humidité relative (HR). Ils ont été pesés avant le conditionnement et à la fin, pour ensuite faire les tests mécaniques (tableau 7.2).

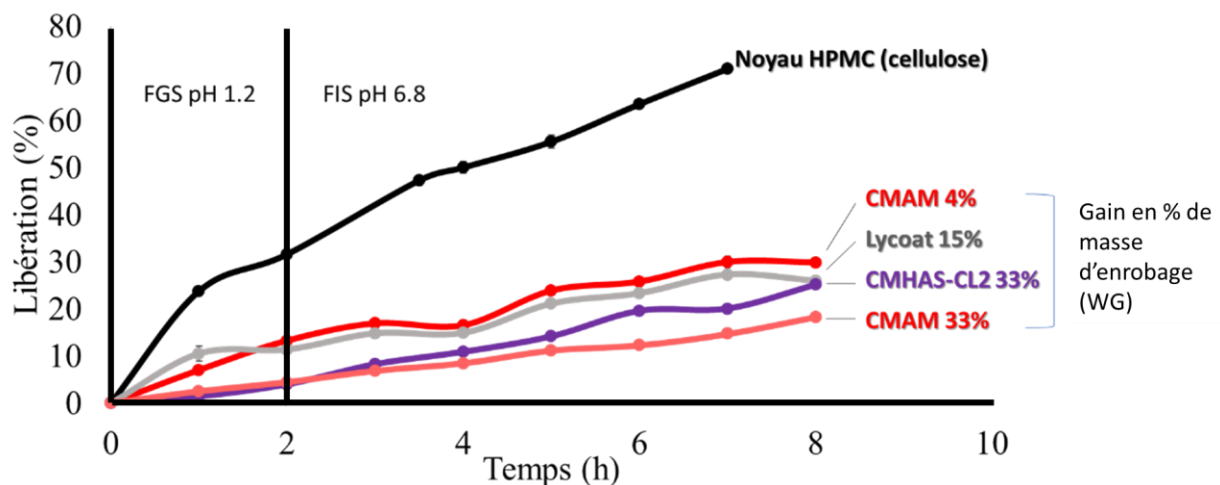
En présence de plastifiant, les films étaient très plats et lisses, sans craque, même sans chauffage de la solution filmogène. Le chauffage de la solution filmogène a donné des films plus lisses et homogènes. La DRX des films a montré que le glycérol accélérât la formation de cristaux, conformément à la littérature (Mali *et al.*, 2002).

Les plastifiants, à des concentrations de 20 % et 40 % en poids de l'amidon, n'ont pas augmenté la solubilité des films d'ARA modifié. Cependant, ils ont augmenté la solubilité des films d'amidon de maïs modifié. En fait, ils ont probablement plutôt créé des pores dans les films mais ces pores ont eu un impact plus important sur l'amylopectine. Cela concorde avec les observations de la littérature comme quoi les plastifiants augmentent la PVE et que certains auteurs ont observé une baisse de solubilité (Müller *et al.*, 2008b) et d'autres une augmentation (López et García, 2012).

### 7.2.3 Enrobage des comprimés

#### 7.2.3.1 Application de l'enrobage d'amidon (sans plastifiant) sur des comprimés monolithiques faits à l'UQAM

Dans un essai préliminaire, des noyaux à désintégration lente ont été utilisés pour permettre d'appliquer la solution d'enrobage sans endommager le comprimé. Des comprimés monolithiques à faible solubilité ont été produits par compression directe (presse Carver, 2 tonnes) en utilisant l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) de grade K100M avec 60 % d'acétaminophène. La HPMC de grade K100M est très visqueuse et a une haute masse moléculaire (100 000 g/mol), elle se dissout plus lentement que les autres grades de HPMC. Les enrobages adhéraient bien aux comprimés et s'appliquaient facilement. Quelques matériaux ont été comparés comme enrobages sur ces noyaux à dissolution lente (fig. 7.1).



**Figure 7.1** Libération d'acétaminophène des comprimés monolithiques enrobés au laboratoire à l'UQAM. Les fluides simulés ne contenaient pas d'enzyme. CMAM: carboxyméthyl amidon de maïs. CMHAS-CL #2: carboxyméthyl-ARA réticulé.

Les enrobages ont été appliqués généreusement pour assurer une uniformité. Les gains de poids après enrobage étaient très grands avec cette méthode manuelle. La vitesse de libération d'acétaminophène était moyenne pour le noyau sans enrobage et plus lente avec les enrobages. Un noyau à dissolution rapide était nécessaire pour obtenir des résultats plus significatifs, ainsi qu'un appareil à enrobage.

L'acétaminophène a été détecté dès la première heure dans SGF. Le noyau seul libérait 30 % environ dans SGF, suivi par l'enrobage Lycoat® à 15 % en gain de poids. L'enrobage fait de carboxyméthyl amidon de maïs à 4 % de gain de poids a laissé diffuser 10 % de l'agent actif et à 33 % de gain de poids, moins de 5 % ont diffusé. L'enrobage à 33 % de gain de poids de CMARA réticulé (CMARA-CL10#2) a laissé diffuser moins de 1 % d'acétaminophène après 1 h en SGF. L'application d'un scellant sera nécessaire pour limiter la diffusion du médicament dans la solution filmogène pendant l'enrobage.

Toutefois, la détection des imperfections était difficile car l'infiltration n'avait pas un impact rapidement visible sur le comprimé. Pour cette raison, des comprimés monolithiques à désintégration rapide ont été formulés.

#### 7.2.3.2 Conception d'un noyau à désintégration rapide contenant un traceur pour suivre l'efficacité des enrobages plus facilement et rapidement

Le lactose est très soluble et est utilisé comme remplissage. La cellulose micro cristalline (MCC) est aussi utilisée comme remplissage. Non modifiée, la MCC ne se solubilise pas. Cristalline, elle crée des pores dans la matrice monolithique et s'érode rapidement. À cause des modifications, la cellulose HPMC est plus hydrophile et amorphe que la MCC. La HPMC forme des matrices solides. La HPMC de grade K100M a été utilisée pour former des comprimés se présentant comme des noyaux monolithiques durs. Les concentrations de ces ingrédients ont été ajustées jusqu'à l'obtention d'un comprimé non-friable avec un temps de dissolution rapide (tableau 7.2).

Toutefois, la solubilité des noyaux était telle qu'ils absorbaient l'humidité de la solution filmogène, gonflaient et s'érodaient. En industrie, ce phénomène est contré par l'utilisation d'une sous-couche d'enrobage (scellant): il permet de protéger le noyau et limiter la diffusion de l'actif. Cette sous-couche devrait être d'un matériau compatible avec celui de la matrice et de l'enrobage principal pour une bonne adhésion.

La formulation #11 (tableau 7.2) a été sélectionnée pour l'application d'un scellant. Une seule application fut nécessaire (trempage). Ils ont donc été d'abord trempés dans une solution à 2% d'HPMC K100 et séchés avant d'appliquer la solution filmogène d'amidon. De beaux enrobages ont été obtenus de cette façon. Toutefois, en laboratoire, la précision de l'enrobage est faible et une grande quantité d'enrobage doit être déposée, rendant le test subséquent peu représentatif. Il était donc nécessaire de faire des tests en industrie.

**Tableau 7.2 Formulation d'un noyau monolithique à désintégration rapide**

Formulations	Temps de désintégration
1) Lactose	2 min
2) Kollidon VA 64 <sup>1</sup>	1 h
3) Placebo Colorcon <sup>2</sup>	5 min
4) CMC + 60 % acétaminophène	> 24 h
5) CMC + 80 % acétaminophène	friable
6) HPMC K100 + 60 % acétaminophène	> 24 h
7) 25 % CMC + 15 % Lactose + 60 % acétaminophène	> 24 h
8) 40 % K100 + 60 % acétaminophène	> 24 h
9) 25 % K100 + 15 % lactose + 60 % acétaminophène	> 30 min
10) 15 % K100 + 25 % lactose + 60 % acétaminophène	> 30 min
11) 10 % K100 + 15 % MCC + 15 % lactose + 60 % acétaminophène	15 min

<sup>1</sup> : vinyl pyrrolidone – vinyl acetate (copolymère de ratio 6:4). <sup>2</sup> : lactose, Starch1500® et MCC (ratios inconnus).

#### 7.2.4 Essais avec de l'équipement industriel

Des essais d'enrobage ont été effectués chez Colorcon (Montréal). Les deux premiers essais ont été formulés en dispersant à haute vitesse les poudres de dérivés d'amidon. Les enrobages résultants n'ont pas adhéré à la surface. La solubilisation sans chauffage aurait probablement laissé beaucoup de cristallinité. De plus, le talc a été utilisé, ainsi que le triéthylcitrate, un plastifiant lipophile, lesquels ont probablement nuit à la formation d'un film homogène.

Pour les essais 3 à 6, le carboxyméthylamidon a été gélatinisé préalablement au laboratoire à l'UQAM, dans un bain marie et les enrobages résultants ont bien adhéré. Les enrobages à base de CMARA gélatinisé 1h dans NaOH (CMHAS#3, essais #3) n'ont pas offert une bonne protection contre le fluide gastrique simulé (SGF). Le CMARA gélatinisé 20 min seulement a formé des enrobages plus homogènes et une partie des comprimés enrobés ont résisté 2h dans le SGF. Cela propose que la présence de cristallinité résiduelle est souhaitable, ou peut-être que la gélatinisation 1h dans NaOH aqueux abîme les chaînes.

L'essai #5 était avec du glycérol pour augmenter la flexibilité des enrobages mais cela n'a pas empêché les comprimés de s'abimer en utilisant 500 g de comprimé dans le tambour. Le glycérol est plus hydrophile et les films contenant du glycérol sèchent moins vite, ce qui pourrait expliquer les enrobages abîmés.

Finalement, pour le 6<sup>ème</sup> essai sur 1 kg de noyaux, la concentration de solide de la solution filmogène a été augmentée de 4.5% à 6.5% et le gain de poids doublé de 5 % à 10 %. Les comprimés enrobés ont bien résisté 2 h dans le SGF. La quantité de noyau dans le tambour semble donc un paramètre essentiel pour obtenir des enrobages fonctionnels.

### 7.3 Évaluation du DS par FTIR

La détermination du degré de substitution (DS) est une étape nécessaire, longue et qui génère une perte de produit. Une méthode simple a été mise sur pied en utilisant des matériaux dont le DS était connu. Le manuscrit d'article est présenté à l'annexe B. L'utilisation d'une bande de référence permet de limiter l'impact des changements d'intensité reliés à la taille des particules ou à l'appareillage. Différentes bandes de références ont été comparées et le meilleur ratio a été utilisé pour évaluer le DS des amidons ampholytiques ( $R^2 > 0.99$ ). Il a aussi été nécessaire de déterminer une méthode d'application de la ligne de base.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

**Le but** de la recherche était d'étudier différents CMHAS comme matériaux d'enrobages entériques pour des comprimés à libération ciblée à l'intestin grêle ou différents segments incluant le côlon. Le projet consistait à opérer différentes modifications d'amidon en synthèse aqueuse. Les modifications utilisées ont été les mêmes que celles rapportées par le Laboratoire UQAM (Benyerbah *et al.*, 2019; Massicotte *et al.*, 2008; Mulhbachter *et al.*, 2001; Sakeer *et al.*, 2018).

**La problématique** - Les enrobages entériques sur le marché sont synthétiques. Les amidons courants (maïs, pomme de terre) gélatinisent facilement et donnent des films solubles. Précédemment, des études ont utilisé l'ARA pour former des enrobages ciblant les intestins ou le colon. Toutefois, l'ARA rétrograde et nécessite un traitement intense à l'autoclave, ce qui est difficile à opérer et peut avoir un impact sur les chaînes d'amidon.

Des problématiques secondaires ont été rencontrées; un DS trop haut donnait des films fragiles. Il fallait trouver les paramètres nécessaires pour que les solutions filmogènes forment des films appréciables. Les caractéristiques des films étaient dépendantes de l'humidité, les enrobages ne pouvaient pas être bien appliqués au laboratoire et certains excipients courants pour l'enrobage n'étaient pas compatibles avec l'amidon.

Les enrobages s'appliquaient bien sur des comprimés monolithiques à faible solubilité mais le test de libération du médicament était peu représentatif. Il était nécessaire d'utiliser une enrobeuse à comprimé pour obtenir des enrobages homogènes et des résultats représentatifs.

**Les objectifs fixés** étaient : 1) synthétiser différents dérivés carboxyméthylés, étudier les caractéristiques des films et les appliquer comme enrobage, puis 2) comparer le comportement des comprimés et des films.

**Les méthodes utilisées** - La modification en phase aqueuse a permis d'obtenir des excipients aux propriétés particulières par une méthode sécuritaire. La gélatinisation avec NaOH aqueux est essentielle pour l'ARA, qui ne gélatinise pas dans l'eau (sauf à l'autoclave). La carboxyméthylation en phase aqueuse donne un moins bon rendement qu'en phase organique mais des DS jusqu'à 0.34 ont été obtenus. La possibilité d'obtenir des DS moyens en phase aqueuse était sous-estimée dans la littérature.



Le coulage des films est une méthode accessible mais peu rentable en industrie. Il est toujours possible d'effectuer les recherches initiales sur des films obtenus par coulage pour ensuite faire une mise à niveau vers un procédé plus efficace comme le pressage à chaud, l'extrusion ou le coulage sur ruban. Néanmoins, les films obtenus par coulage étaient très satisfaisants.

Les méthodes d'analyses ont toutes été utiles. Particulièrement, des nouveaux paramètres ont été obtenus en DRX (%V) et en analyse thermogravimétrique ( $T_{W60}$ ), ayant une meilleure corrélation avec les autres paramètres que les paramètres habituels. Les ratios FTIR ont été utiles pour observer les changements structuraux à petite échelle et surtout comme méthode peu coûteuse et accessible.

**La démarche adoptée** - Différents dérivés ont été comparés à des dérivés d'autres amidons et des produits commerciaux. Les paramètres importants ont été identifiés dans la littérature et utilisés pour sélectionner des formulations ou conditions de test pour les films.

**Les résultats les plus saillants** - Différents tests ont montré que les dérivés d'ARA utilisés comme excipients pour les matrices monolithiques avaient du potentiel comme matériaux filmogènes. Les matériaux filmogènes ont pu être utilisés comme enrobages. Le comportement des matrices monolithiques dans les fluides simulés SGF/SIF a pu être relié aux comportements des films correspondants. La solubilité des poudres, comprimés, films et enrobages à base d'ARA modifié a pu être modifiée en changeant des paramètres de synthèse.

**Les limites, les leçons et pistes de recherche** - Les limites de ce travail se situent dans les matériaux et les procédés. Il n'y a qu'une seule méthode qui a été utilisée pour obtenir les films. Seulement deux plastifiants ont été étudiés. La caractérisation des films ne tenait compte que d'une seule épaisseur. Il n'y a pas eu d'étude sur la diffusion de médicament, même si à la base la formulation (comprimés) visait la protection d'agents bioactifs (*i.e.* enzymes thérapeutiques formulées pour la livraison intestinale) durant le transit gastrique. Il serait aussi pertinent d'étudier la stabilité des films dans le temps et l'impact de l'humidité sur leur entreposage. Les enrobages formulés ne tenaient pas compte des autres excipients utilisés pour l'enrobage en industrie (talc, silice, colorant). Lorsqu'ils avaient été testés en industrie avec un plastifiant plus lipophile, le triéthylcitrate, les enrobages n'étaient pas bons.

Par rapport aux synthèses, l'utilisation d'un milieu aqueux est essentielle pour désorganiser l'ARA. Les paramètres de synthèse du CMARA doivent encore être étudiés. Il serait intéressant de comparer le mode

d'ajout du SMCA et le ratio amidon/NaOH 1 :3. Ce ratio 1 :3 pourrait permettre d'obtenir les mêmes propriétés qu'en slurry en évitant d'avoir recours à un appareillage plus coûteux pour les préparations plus visqueuses. La réticulation doit se faire entre les pH 9 et 10. Elle devrait être effectuée en fin de gélatinisation dans le NaOH aqueux car la carboxyméthylation requiert un pH > 12. Les producteurs d'amidon exploitent surtout les fonctions hydroxypropyl comme modification. Le carboxyméthyl amidon est donc une bonne piste de recherche et de nouveauté.

Certains paramètres des méthodes de caractérisation spectrales peuvent être reliés aux propriétés physiques des amidons. Une méthode rapide a été mise au point avec le FTIR montrant une bonne corrélation avec les DS obtenus par titration. Cette méthode permet aussi de vérifier le DS avec des groupes CM sur le CMS réticulé ou avec des fonctions amines. Le glycérol ou le sorbitol (selon la solubilité des matériaux), semble plus compatibles avec l'amidon que le triéthylcitrate. Au sujet des enrobages, le CMARA de DS 0.17 a donné de bons résultats : les comprimés enrobés ont résisté 2 h de transit gastrique.

#### Conclusions générales

Dans le domaine de la médecine, les progrès ne se limitent pas uniquement aux nouveaux composés thérapeutiques ou aux traitements révolutionnaires ; ils englobent également des approches innovantes dans les systèmes d'administration de médicaments. L'une de ces frontières se situe dans le domaine de la médecine du revêtement, où les méthodes traditionnelles reposent sur des matériaux synthétiques. Cependant, une voie de recherche en plein essor a émergé, visant à exploiter le pouvoir de la nature elle-même comme méthodologie de revêtement médical.

Cette thèse représente une entreprise pionnière dans l'exploration des dérivés de carboxyméthylamidon en tant que nouvel enrobage de comprimés pour les dosages pharmaceutiques. En corrélant leurs propriétés physicochimiques à leur comportement dans les fluides gastriques, nous visons à libérer leur potentiel pour révolutionner l'administration orale de médicaments. L'utilisation de dérivés de carboxyméthylamidon est prometteuse d'amélioration des performances des médicaments, d'amélioration des résultats pour les patients et d'une approche plus durable des matériaux de revêtement pharmaceutiques.

Les dérivés d'amidons dans le domaine pharmaceutique

Pendant plus de cinq décennies, l'amidon a joué un rôle crucial dans la préparation des comprimés, à la fois par voie sèche et par voie humide, servant de charge, de liant ou de désintégrant. En conséquence, il est devenu un ingrédient largement utilisé, connu sous le nom d'excipient, dans la production de comprimés.

Pour que divers dérivés d'amidon soient approuvés en tant qu'ingrédients pharmaceutiques, ils ont dû subir une évaluation et être acceptés par la FDA.

L'hydroxyéthylamidon (HES), le dérivé d'amidon le plus largement commercialisé, a été reconnu par la FDA en raison de sa sécurité et de son approbation réglementaire. Cependant, étant non ionique, il manque de certaines propriétés souhaitables pour de nombreuses applications et est considéré comme relativement moins fonctionnel par rapport à d'autres dérivés d'amidon.

D'autre part, le carboxyméthylamidon (CMS) est connu depuis longtemps comme un dérivé de l'amidon aux propriétés prometteuses. Cependant, son utilisation est limitée et les synthèses sont principalement effectuées en phase organique pour optimiser le rendement et simplifier le processus de séchage. Cette approche a été privilégiée pour sa praticité et son efficacité dans les laboratoires à petite échelle. Le produit commercial, le glycolate d'amidon sodique (SSG), est un désintégrant pour comprimé accepté par la FDA et produit dans plusieurs pays.

Des modifications en phase aqueuse - Le carboxyméthylamidon

Néanmoins, les avancées récentes de la recherche ont mis en évidence les avantages de la modification aqueuse de l'ARA. En utilisant des méthodes à base aqueuse, il est possible d'obtenir des matériaux avec des caractéristiques distinctes et des fonctionnalités améliorées. Ces dérivés d'ARA synthétisés de manière aqueuse présentent des propriétés souhaitables, telles qu'une solubilité basse, mais améliorée, résultant en un temps de désintégration contrôlée des comprimés et un comportement réactif aux stimuli environnementaux (comme la présence d' $\alpha$ -amylase). Cette découverte a ouvert de nouvelles possibilités pour la production industrielle et l'utilisation généralisée des dérivés d'ARA. Effectivement, Contramid® et Liamid® sont deux excipients matriciels d'ARA réticulé pour la libération contrôlée.

Perspectives

La synthèse aqueuse de CMARA offre plusieurs avantages importants pour les applications industrielles. Elle permet l'évolutivité, la rentabilité et des processus de fabrication simplifiés, ce qui la rend plus adaptée à la production à grande échelle par rapport aux modifications en phase organique. De plus, les dérivés d'ARA obtenus en phase aqueuse peuvent être adaptés pour répondre à des exigences spécifiques, ce qui les rend polyvalents pour diverses applications dans les industries pharmaceutiques, biomédicales et autres.

En présence de liquide intestinal, les groupes carboxyméthyle (CM) de la couche externe subissent une déprotonation, entraînant une ionisation et une hydratation. Par conséquent, le comprimé gonfle et, soit par érosion soit par désintégration, libère le médicament enfermé.

Ce phénomène de changement structurel a été appliqué avec succès dans la formulation de comprimés gastro-résistants pour l'administration orale de divers médicaments, y compris des agents bioactifs macromoléculaires tels que les enzymes pancréatiques, la diamine oxydase, le vaccin oral F4 fimbriae, *Escherichia coli*, et des probiotiques comme *Lactobacillus rhamnosus* (Calinescu et Mateescu, 2008; Calinescu et al., 2012; Calinescu et al., 2005; Calinescu et al., 2007; Massicotte et al., 2008). Cette étude sur F4 fimbriae était la première à formuler un vaccin oral.

Ces agents bioactifs bénéficient d'une protection renforcée grâce à la présence de groupes CM, qui offrent une stabilité supplémentaire contre l'acidité gastrique et contrecarrent l'action de l' $\alpha$ -amylase intestinale. Ces dernières années, des formulations ciblant le côlon ont été développées avec succès à l'aide de CMARA. Une étude *in vivo* a suivi le transit intestinal d'un comprimé CMHAS contenant 30 % d'un modèle protéique et d'un radio-opacifiant à l'aide de l'imagerie par rayons X (Labelle et al., 2019). La formulation à base de CMHAS présentait des temps de désintégration similaires *in vitro* et *in vivo* (4h30). Les fonctions carboxyliques du CMS contribuent également à l'augmentation de la bioadhésion de l'amidon.

De plus, le CMS a été transformé en microsphères réticulées pour l'administration gastrique (Lemieux et al., 2015).

Expérimental : Synthèse de différents amidons modifiés

L'observation que les poudres formant des gels donnent des comprimés formant des gels et des films formant des gels et que les poudres insolubles donnent des comprimés insolubles et des films insolubles

peut être utilisée comme outil de prévision et a des implications majeures pour le développement et l'optimisation des revêtements de comprimés.

Deux nouveaux paramètres ont été proposés; le pourcentage de cristallinité type V en diffraction des rayons X et la température à 50 % de perte de poids obtenue par analyse thermogravimétrique. Ces nouveaux paramètres avaient une meilleure corrélation que les paramètres utilisés habituellement et seront donc très utiles pour les études structurales de l'amidon dans tous les domaines et ils faciliteront aussi la comparaison des données qualitatives, ce qui constitue un manque dans le domaine de l'amidon.

De nouveaux dérivés d'ARA avec des propriétés filmogènes

À ce jour, les seuls films de dérivés d'amidon riche en amylose qui avaient été étudiés étaient à base d'ARA réticulé. Ce projet de thèse propose plusieurs nouveaux dérivés carboxyméthylés, réticulés, aminés ou des combinaisons. La conception et l'analyse de ces nouveaux matériaux et films sera utile pour les recherches sur l'amidon dans plusieurs secteurs. Les modifications ioniques sont essentielles car elles apportent une nouvelle fonctionnalité à l'amidon.

Les dérivés ampholytiques (ayant deux types de charges : anionique et cationique) d'ARA font partie des récentes avancées dans le domaine et ont la particularité de pouvoir fonctionner avec un plus grand nombre de composés. L'amidon aminé a attiré l'attention dans le domaine de la livraison de gènes en raison de ses propriétés uniques qui en font un support prometteur pour la livraison génique : l'introduction de matériel génétique étranger dans des cellules à des fins thérapeutiques, telles que le traitement de troubles génétiques ou le développement de thérapies géniques.

Ces groupes amino fournissent des sites chargés positivement sur la molécule d'amidon, lui permettant d'interagir avec des acides nucléiques chargés négativement. Cette interaction électrostatique entre l'amidon aminé et les acides nucléiques facilite leur condensation en nanoparticules ou complexes, protégeant les acides nucléiques de la dégradation et facilitant leur livraison dans les cellules cibles.

Les groupes amino chargés positivement peuvent interagir avec les acides nucléiques chargés négativement, permettant une condensation efficace du matériel génétique en nanoparticules. De plus, l'amidon aminé améliore la stabilité des acides nucléiques, les protégeant de la dégradation par les nucléases dans l'environnement extracellulaire.

Bien que l'amidon aminé soit prometteur en tant que vecteur de délivrance de gènes, des recherches et des optimisations supplémentaires sont encore nécessaires pour améliorer son efficacité, sa stabilité et ses capacités de ciblage. Le ARA ampholytique n'a pas été étudié pour cette application et pourrait offrir des avantages intéressants, par rapport aux autres amidons. La thèse montre que ces matériaux sont filmogènes, ce qui est une propriété essentielle pour concevoir divers supports ou matrices.

#### La nécessité de matériaux biodégradables polyvalents

Il existe une panoplie d'applications des amidons basée sur ses propriétés de biodégradabilité. Dans le domaine biomédical, les dérivés de l'amidon permettent de former des endoprothèses résorbables qui résistent quelques jours avant d'être dégradées par l' $\alpha$ -amylase. Cela évite au patient de devoir obtenir un deuxième rendez-vous pour faire enlever la prothèse. Sous forme de microsphères dégradables (EmboCeptS®, Spherex®), des dérivés d'amidon sont utilisés pour l'embolisation artérielle transiente permettant l'administration localisée d'agents chimiothérapeutiques anticancer. Ces microsphères sont lentement et progressivement hydrolysées par l' $\alpha$ -amylase plasmatique, un processus qui permet leur élimination du système (avec la libération de l'agent thérapeutique et la restauration du flux sanguin). Toutes ses applications pourraient tirer profit d'un matériau plus résistant tel que l'ARA modifié. Par exemple, des implants antibactériens temporaire pour traitement local sous-cutané ont été obtenus avec Contramid®, un ARA réticulé, permettant une durée plus longue avant la dégradation.

#### Nouvelle perspective pour les plastifiants

Cette thèse présente des preuves à l'appui de l'utilisation du sorbitol comme alternative supérieure au glycérol dans les enrobages de comprimés. Alors que les études précédentes se sont principalement concentrées sur le glycérol en tant que plastifiant de l'amidon, revendiquant ses propriétés mécaniques améliorées, notre recherche dévoile une découverte importante : la nature hygroscopique élevée du glycérol pose un inconvénient important pour les enrobages de comprimés, qui nécessitent un séchage rapide.

En comparant le sorbitol et le glycérol, nous avons découvert que le sorbitol offre des avantages distincts en termes d'hygroscopicité réduite par rapport au glycérol, ce qui le rend plus adapté aux revêtements de comprimés où un séchage rapide est une exigence cruciale. Cette nouvelle idée remet en question le

concept dominant selon lequel le glycérol est le plastifiant optimal pour les revêtements à base d'amidon, soulignant la nécessité d'une réévaluation minutieuse de la sélection des plastifiants.

Avec le sorbitol, il est possible d'obtenir des propriétés de film uniques, une résistance à l'humidité améliorée, une transparence améliorée, des conditions de traitement optimisées et des alternatives potentiellement rentables par rapport au glycérol. Ces nouveaux aspects peuvent élargir la gamme d'applications des films d'amidon et offrir de nouvelles opportunités pour le développement de matériaux d'emballage durables et fonctionnels.

#### Des nouveaux excipients biocompatibles

L'évaluation de la cytotoxicité des excipients dans les formulations pharmaceutiques est cruciale pour la sécurité des patients, le maintien de la viabilité et de la fonctionnalité des cellules, la conformité réglementaire, la compatibilité avec les systèmes biologiques et la garantie de produits pharmaceutiques de haute qualité. Plusieurs de ces amidons modifiés étant nouveaux, il était donc impératif de déterminer leur cytotoxicité. Il en ressort qu'avec un faible degré de modification, les excipients utilisés étaient ne démontraient pas de cytotoxicité. Ils étaient même moins cytotoxiques que le produit commercial glycolate d'amidon sodique, lequel est accepté par la FDA.

#### Des excipients qui répondent à un stimulus enzymatique

Le développement de systèmes intelligents d'administration de médicaments qui répondent à des déclencheurs biologiques spécifiques, tels que des enzymes, est un domaine de recherche et d'innovation en cours. Alors que les revêtements entériques sont utilisés depuis de nombreuses années pour protéger les médicaments de l'acide gastrique et faciliter la libération ciblée, l'incorporation de la dégradation enzymatique ajoute une nouvelle dimension de contrôle et de spécificité à ces systèmes.

Les temps de désintégration de comprimés et de films de nouveaux dérivés d'ARA (carboxyméthylé, réticulé, aminé ou une combinaison) mesurés avec et sans  $\alpha$ -amylase ont montré que la susceptibilité à la dégradation enzymatique était conservée malgré la présence des modifications. Pour se dissoudre, les moins soluble des films à base de dérivés d'ARA étudiés, ont nécessité la présence d' $\alpha$ -amylase, autrement ils ne se solubiliseraient pas du tout. De telles informations sur des nouveaux matériaux seront pertinentes dans toute la communauté des chercheurs étudiant l'amidon.

## Relation entre les modifications et les comportements des films

La qualité des films (homogénéité, aspect, rigidité) était grandement améliorée en présence de modifications multiples (Réfs : vôtres et autres). Augmenter les modifications, par exemple une combinaison anionique, cationique et réticulé, réduit grandement la capacité de la structure à se réorganiser.

## Stabilité des films : l'importance des modifications

La structure cristalline de l'amidon est tenue par une énorme quantité de lien hydrogène. La solubilisation (gélatinisation) peut se produire par chauffage lorsque les associations par les liens hydrogène qui tiennent la structure deviennent plus faibles à cause de l'augmentation d'énergie. Avec le temps ou le refroidissement, la structure tente de se réorganiser dans une forme cristalline, plus stable. La présence de groupes fonctionnels (les modifications) empêche la réorganisation par encombrement stérique. La cristallinité de l'amidon modifié peut donc changer dans le temps : il se réorganise, devient plus compact par le phénomène de rétrogradation. Ce phénomène est souvent indésirable car il peut modifier la forme des matériaux à base d'amidon. Par exemple, les films d'amidon natif craquent rapidement. La présence de modifications telles que des groupes fonctionnels ioniques peut empêcher cette réorganisation. En effet, plus il y a de modifications, plus l'amidon devient filmogène (et soluble en eau froide).

## Modulation du temps de livraison des médicaments

Pour montrer que le revêtement était efficace, des noyaux à désintégration rapide (15 min) ont été utilisés. Ces noyaux s'hydratent rapidement et seraient donc impactés par l'enrobage. Après l'application du revêtement, les temps de désintégration étaient entre 2h et 2h30 dans les fluides gastriques simulés (pH 1.2). Ce temps de dissolution dépend surtout de l'épaisseur de l'enrobage de CMHAS mais aussi de la composition du noyau car un noyau moins soluble s'hydratera plus lentement.

## Conclusions

Cette recherche représente la première exploration complète des dérivés de carboxyméthylamidon en tant qu'enrobage de comprimés. Grâce à des études de caractérisation et de formulation, nous évaluons leurs propriétés physicochimiques et leur comportement dans les fluides digestifs simulés. Ces recherches



fournissent des informations précieuses sur les avantages potentiels des dérivés de carboxyméthylamidon pour améliorer l'efficacité des médicaments et l'expérience des patients.

L'introduction de dérivés de carboxyméthylamidon en tant qu'enrobage de comprimé amène de nouvelles possibilités dans la formulation et l'administration de médicaments. En utilisant leurs propriétés filmogènes, ces dérivés ont le potentiel de fournir une barrière protectrice pour les médicaments oraux, assurant la protection contre le fluide gastrique et facilitant la libération contrôlée dans le tractus intestinal.

Jusqu'à maintenant, les enrobages entériques rapportés comme étant à base d'amidon contenaient majoritairement de la cellulose modifiée (i.e. 75%) ou encore des matériaux synthétiques comme Eudragit® (méthacrylates). Le but était donc de produire des enrobages entériques où l'amidon est le seul polymère.

Les résultats de cette recherche ont des implications importantes pour l'industrie pharmaceutique, les prestataires de soins de santé et les patients. L'utilisation de dérivés de carboxyméthylamidon comme matériau d'enrobage de comprimé a le potentiel d'améliorer l'efficacité des médicaments, d'optimiser les schémas thérapeutiques et d'améliorer l'expérience du patient. De plus, leur nature respectueuse de l'environnement s'aligne sur les objectifs plus larges de soins de santé durables et d'atténuation de l'impact environnemental associé aux matériaux de revêtement synthétiques.

Cette étude est l'une des rares à étudier les films à base d'ARA et de ce fait, la première à générer des enrobages entériques à base de CMARA. Auparavant, des enrobages entériques d'ARA ont été rapportés mais ils ont dû être mélangés à d'autres polymères. L'utilisation d'un dérivé anionique d'ARA permet d'augmenter la solubilité juste assez pour former des bonnes solutions filmogènes.

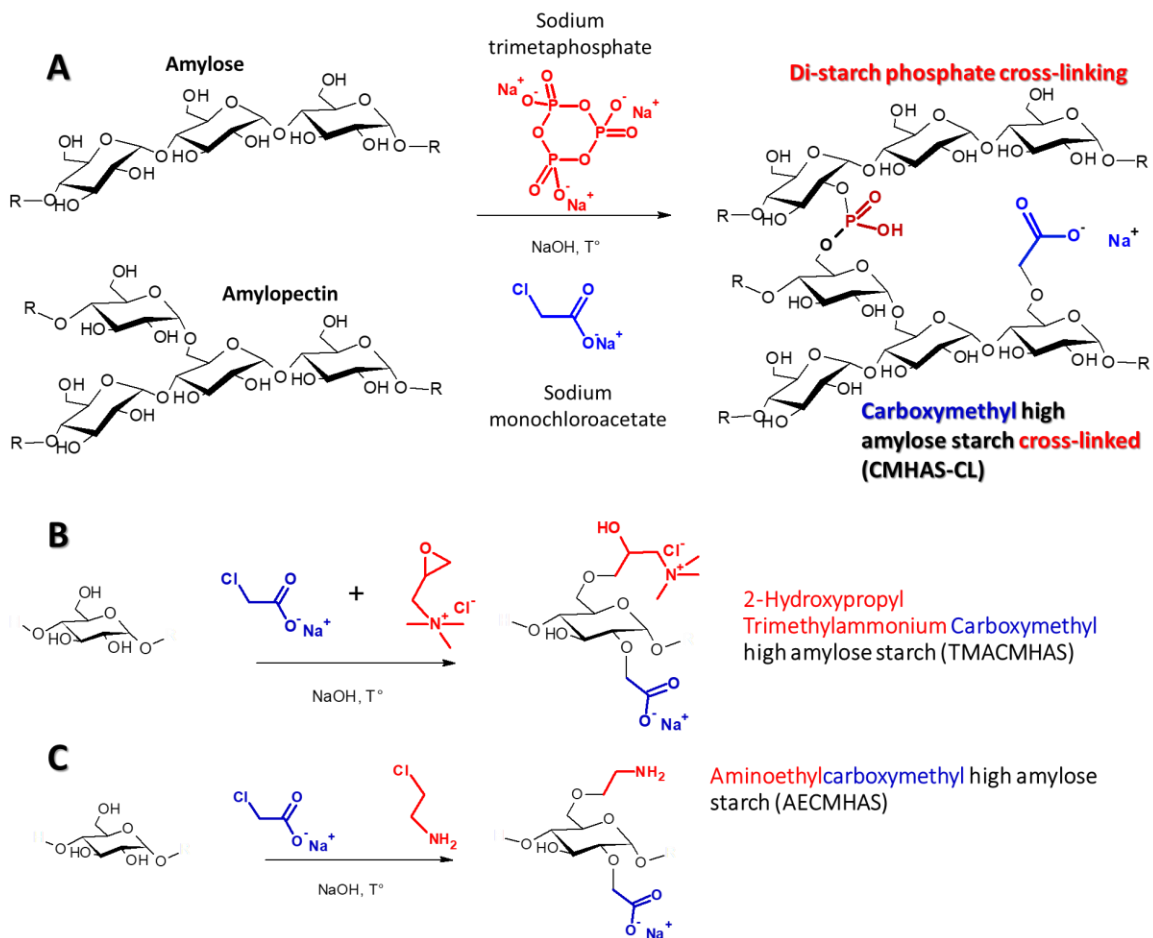
Il a été possible, en ajustant certains paramètres de synthèse, d'ajuster la solubilité des dérivés. L'humidité a eu un impact moindre sur les films avec sorbitol dont le séchage était plus rapide.

Tous ces résultats montrent bien que les dérivés d'ARA viennent s'ajouter à l'éventail des dérivés d'amidons multifonctionnels en augmentant l'étendue de leurs applications dans des domaines variés comme matériau à la structure magnifiquement complexe et unique, un matériau omniprésent, biodégradable, biocompatible et surtout polyvalent.

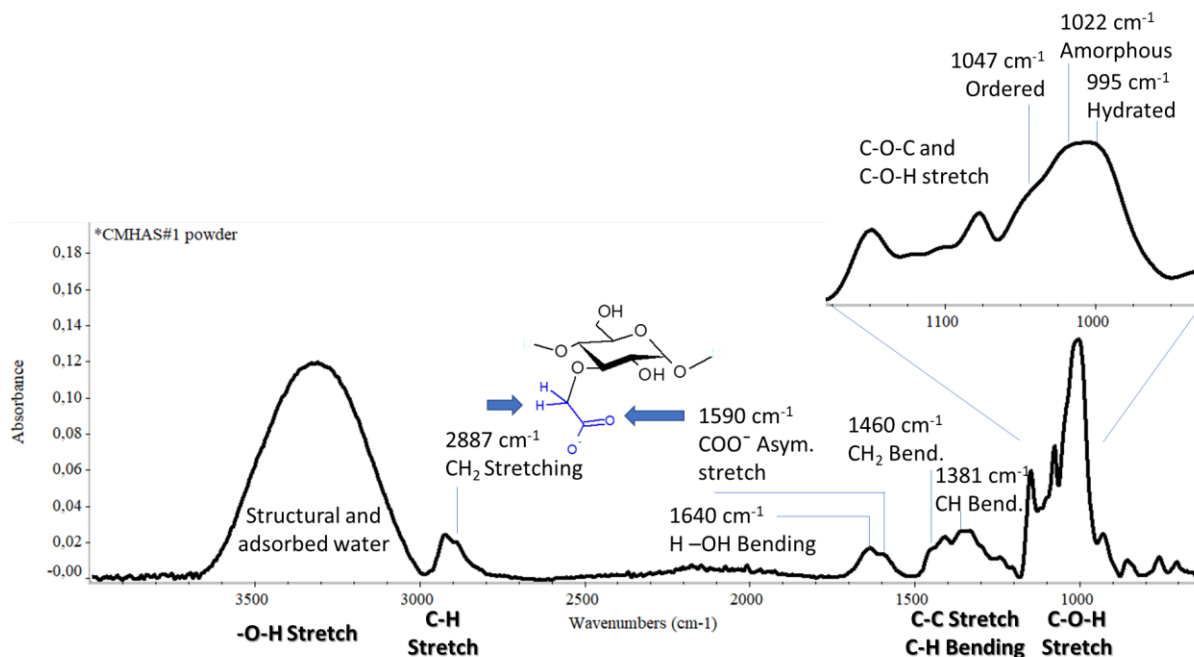
**ANNEXE A**  
**MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE DU CHAPITRE 5**

**Anionic and Ampholytic High-Amylose Starch Derivatives as Excipients for Pharmaceutical and Biopharmaceutical Applications: Structure-Properties Correlations**

**Marc-André Labelle<sup>1</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1,\*</sup>, Salma Tajer<sup>1</sup>, Yong Xiao<sup>2</sup>, Benoît Barbeau<sup>2</sup> and Mircea-Alexandru Mateescu<sup>1</sup>**



**Figure S 1** Synthesis of starch derivatives using physical and chemical modifications. A) CMHAS-CL obtained by reacting starch with sodium trimetaphosphate (STMP) and sodium monochloroacetate (SMCA); B) TMACMHAS was obtained by reacting starch with SMCA and glycidyl trimethylammonium chloride; C) AECMHAS was obtained by reacting with chloroethylamine and SMCA.



**Figure S 2 FTIR spectra of carboxymethylstarch.** Upon grafting of carboxymethyl functions, new bands appear for CH<sub>2</sub> and COO<sup>-</sup> in the ATR-FTIR spectra of the derivatives. The 1200-1000 cm<sup>-1</sup> region contains structural information about the short-range organization. The region 800-1185 cm<sup>-1</sup> (insert) was corrected with a baseline, deconvoluted and normalized to analyze the bands 995, 1022, 1035 and 1044 cm<sup>-1</sup>.

**Table S 1 Literature and experimental values for ATR-FTIR short-range structural parameters of reference starch samples .** Powders were not dried or hydrated.

	Experimental				Others			Reference
	AOC	Ordered	Amorph	CI	AOC	Ordered	CI	
Starch materials	1045 / 1035	1045/ 1022	1022/ 995	995/ 102	1045 / 1035	1045/ 1022	995/ 1022	
Wheat	-	-	-	-	-	0.59	-	(Li <i>et al.</i> , 2019)
Corn	1.26	0.65	0.93	1.08	1.1	0.61	-	(Dong et Vasanthan, 2020)
Potato	1.11	0.68	0.86	1.16	-	0.79	-	(Li <i>et al.</i> , 2019)
HAS	1.08	0.67	0.86	1.16	-	0.75	1.03	(Huang <i>et al.</i> , 2016)
Other starches	-	-	-	-	-	0.5-0.6	1.2-1.3	(Ahmad <i>et al.</i> , 2020)
	-	-	-	-	-	0.65	-	(Li <i>et al.</i> , 2019)

**Table S 2 FTIR and DRX parameters for powders (P), tablets (T) and films (F).** The percentage of relative crystallinity (%RC) was obtained by using the background function in the software Diffract Suite. To estimate the baseline, the background parameter ‘enhanced’ was activated and the curvature was increased until obtaining a good fitting with the spectral baseline (*i.e.* 25%). The %V is the percentage of V-type peaks in the crystalline region.

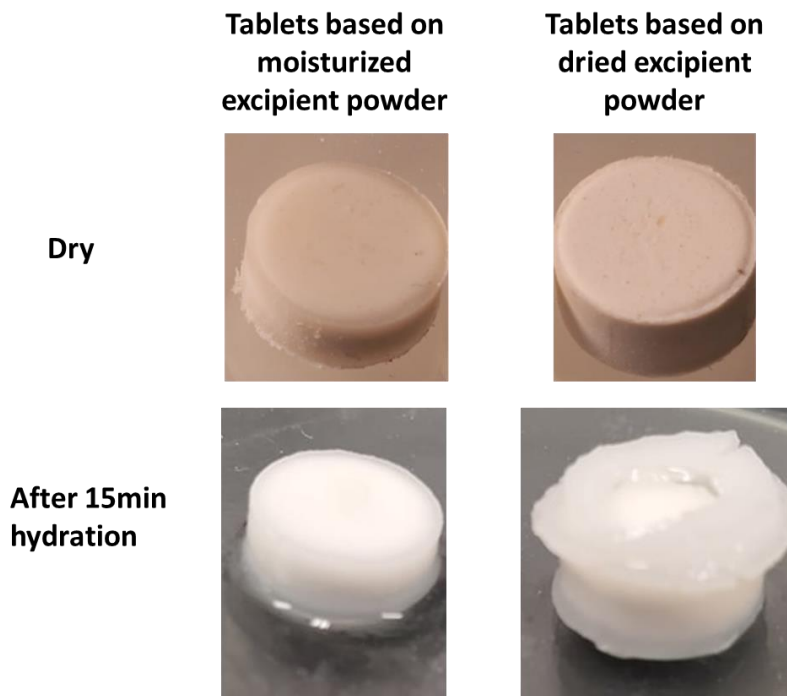
Sample	Form	Small-range organization - FTIR			Long-range organization XRD	
		AOC 1044/1035	Ordered 1044/ 1022	C.I. 995/1022	RC (%)	V-type (%)
Hylon VII	P	1.08	0.70	1.20	15.4	23
Gelatinized HAS	P	1.14	0.74	1.26	9.4	31
	T	Not done			5.4	11
CMHAS#1	P	0.92	0.63	1.06	5.2	38
	T	1.02	0.73	1.07	10.6	0
	F	0.96	0.79	1.20	Too rigid	
CMHAS#2	P	0.84	0.56	0.88	12.4	100
	T	0.93	0.61	1.05	7.4	100
	F	0.96	0.63	1.06	2.2	~0
CMHAS#3	P	1.04	0.67	1.02	4.8	44
	T	1.03	0.71	1.07	3.6	50
	F	0.96	0.81	1.20	19.1	16
CMHAS-CL10#2	P	0.85	0.57	0.96	11.4	74
	T	0.95	0.62	1.04	7.7	70
	F	0.98	0.65	1.07	3.1	49
AECMHAS	P	0.95	0.56	0.87	9.4	88
	T	0.92	0.63	1.06	2.5	0
	F	0.97	0.57	1.11	Not done	Not done
TMACMHAS-CL10	P	0.91	0.63	0.93	1.9	31
	T	0.90	0.70	1.15	1.7	15
	F	0.89	0.70	1.02	0.7	0
HAS-CL20	P	0.95	0.69	1.04	9.3	53
	T	1.03	0.71	1.13	5.5	39
	F	0.94	0.77	1.18	Too rigid	
Corn starch Melojel (CS) ®	P	1.36	0.77	1.20	24.2	29
Starch1500®	P	0.98	0.62	1.01	10.2	26
	T	0.93	0.63	1.03	7.4	32
CMCS	P	0.88	0.59	0.97	9.1	7
	T	0.95	0.66	1.02	10.1	100
	F	1.00	0.65	1.11	2.2	37
CMCS-CL10	P	0.93	0.59	1.07	Not done	
	T	0.96	0.69	1.04		
Potato starch (PS) PenPure®	P	1.13	0.77	1.24	20.4	11
Vivastar®	P	1.12	0.80	1.23	10.4	5
	T	1.16	0.81	1.09	12.4	0
	F	0.94	0.64	1.07	3.1	0
CMPS-CL10	P	0.91	0.56	1.07	Not done	
	T	0.90	0.67	1.11		

**Table S 3 TGA and DTG values of the powder samples.** The water content was calculated at 150 °C; the onset was measured as the crossing of the maximum slope with the initial slope; The final weigh was the remaining mass at 350 °C;  $T_{w60}$  and  $T_{w50}$  represent the temperature at which the weigh was 50 or 60% (w/w).

Starch materials	Water (%)	Onset (°C)	Final weight (%)	$T_{w60}$ (°C)	$T_{w50}$ (°C)	DTG peak (°C)	DTG shoulder (°C)
Hylon VII®	10.0	310.8	15.1	321.0	324.6	326.3	297.7
Gelatinized HAS	9.7	297.9	22.5	319.1	326.1	325.8	-
HAS-CL20	10.3	288.5	26.5	306.8	312.5	313.1	-
CMHAS#1	8.9	268.7	25.5	299.2	308.8	307.2	-
CMHAS#2	10.4	254.3	21.8	280.7	290.5	277.9	319.4
CMHA#3	9.2	257.4	17.7	286.0	295.1	292.5	-
CMHAS-CL10#2	10.1	254.8	25.1	285.9	296.9	284.3	-
AECMHAS	9.9	258.3	18.3	277.9	285.7	275.3	318.8
TMACMHAS-CL10	11.3	255.5	19.1	273.7	280.3	274.5	314.3
PenPure®	12.7	308.1	22.3	320.0	324.2	325.6	298.4
Vivastar®	10.8	287.1	37.9	299.9	306.3	299.3	303.2
CMPS-CL10	9.6	288.8	46.3	321.8	<b>338.9</b>	313.9	-
Melojel®	10.6	313.8	22.1	327.3	331.5	332.7	301.6
Starch1500®	8.9	310.5	30.4	326.5	331.5	328.2	304.3
CMCS	10.2	261.3	17.4	289.6	298.5	301.4	-
CMCS-CL10	8.2	292.1	41.1	319.2	330.4	311.2	-

**Table S 4 Spectrophotometric measurements of the starch-iodine complex formation for the different derivatives and native starches.** The absorbance at 640 nm ( $A_{640}$ ) is called the blue value (BV). Using pure amylose and pure amylopectin, a linear regression was obtained for  $A_{640}$  and also for the ratio of absorbance  $A_{640}/A_{525}$ . The error is the mean of the standard deviation of triplicates. AAC : apparent amylose content, calculated by linear regression.

	$A_{640}$	Ratio	Regression	
Native starches	Blue value $\pm$ 0.02 (AU)	$A_{640}/A_{525} \pm 2$ (%)	AAC $\pm 2$ (%)	$A_{640}/A_{525} \pm 2$ (%)
Amylose (AM)	0.93	1.54	100	100
Amylopectine (AP)	0.33	0.86	0	0
Hylon VII <sup>®</sup>	0.78	1.34	74	71
Hylon V <sup>®</sup>	0.67	1.28	56	62
Meloje <sup>®</sup>	0.42	1.21	14	52
PenPure60 <sup>®</sup>	0.41	1.54	13	47
Derivatives	Blue value	$A_{640}/A_{525}$	AAC	$A_{640}/A_{525}$
HAS gelatinized	0.81	1.35	79	72
HAS-CL20	0.76	1.36	71	73
CMHAS#1 DS0.15	0.80	1.41	78	81
CMHAS#2 DS0.3	0.31	1.40	-4	80
CMHAS#3 DS0.15	0.78	1.62	75	111
CMHAS-CL10#1	0.61	1.47	46	36
CMHAS-CL10#2	0.68	1.63	58	89
AECMHAS	0.70	0.93	61	113
TMACMHAS-CL10	0.09	1.49	-41	10
CMCS	0.39	1.39	10	92
CMCS-CL10	0.37	0.95	7	78
CMPS-CL10	0.10	1.18	-39	13
Vivastar <sup>®</sup>	0.03	0.63	-51	-35



**Figure S 3** **Tablets before and after hydration.** Up: CMHAS tablets obtained from moisturized CMHAS (left) and dry CMHAS (right) powders. Down: the same tablets after hydration in water 15 min. The water may act as a plasticizer and impact the structural changes during the compaction process.

**Table S 5** **Analysis of the films using TGA method.**  $W_{final}$  is the weight at 350 °C.

Starch films	Moisture (%)	$W_{final}$ (%)	Onset (°C)	DTG peak (°C)	DTG shoulder (°C)
CMHAS#2	8.4	42.2	284.1	301.0	293.6
CMHAS#3	8.3	41.5	286.0	310.3	294.0 275.6
CMHAS-CL10#2	7.9	42.2	286.9	308.0	-
AECMHAS	8.0	42.7	284.8	305.3	290.9
TMACMHAS-CL10	8.8	43.5	284.3	302.6	290.4
CMCS	8.7	39.8	286.5	311.3	292.6

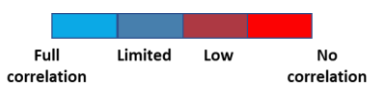


**Table S 6 Comparison of the correlation of the parameters for all the powder starch derivatives (A) and only for HAS (B). Clear blue = good correlation, Red = no correlation. GT: gelatinization time. Tw50, Tw60, DTG and onset are TGA parameters. %RC and %V are XRD parameters. AOC, order and CI are FTIR parameters.**

A)	TGA					XRD		FTIR			BV	DS	Visco.
	GT	Ons	T <sub>w50</sub>	T <sub>w60</sub>	DTG	%RC	%V	AOC	order	CI			
GT	1.0												
Onset	-0.8	1.0											
T <sub>w50</sub>	-0.8	0.9	1.0										
T <sub>w60</sub>	-0.8	0.9	1.0	1.0									
DTG	-0.9	0.9	0.9	1.0	1.0								
%RC	-0.7	0.7	0.7	0.7	0.6	1.0							
%V	0.6	-0.7	-0.7	-0.7	-0.7	-0.3	1.0						
AOC	-0.5	0.7	0.5	0.6	0.6	0.7	-0.8	1.0					
Order	-0.5	0.6	0.3	0.4	0.6	0.5	-0.9	0.9	1.0				
CI	-0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.5	-0.9	0.8	0.9	1.0			
BV	-0.1	0.0	0.0	0.0	0.2	-0.1	0.2	0.1	0.0	0.0	1.0		
DS	0.8	-0.7	-0.6	-0.7	-0.8	-0.5	0.3	-0.5	-0.4	-0.5	-0.6	1.0	
Viscosity	0.6	0.0	-0.2	-0.1	-0.2	-0.1	-0.4	0.2	0.5	0.3	-0.7	0.6	1.0



B)	TGA					XRD		FTIR			BV	DS	Visco.
	GT	Onset	T <sub>w50</sub>	T <sub>w60</sub>	DTG	%RC	%V	AOC	order	CI			
GT	1.0												
Onset	-0.8	1.0											
T <sub>w50</sub>	-0.9	0.9	1.0										
T <sub>w60</sub>	-0.9	1.0	1.0	1.0									
DTG	-0.8	0.9	1.0	1.0	1.0								
%RC	-0.5	0.5	0.5	0.5	0.3	1.0							
%V	0.5	-0.6	-0.6	-0.6	-0.7	0.3	1.0						
AOC	-0.4	0.7	0.7	0.7	0.7	0.1	-0.7	1.0					
Order	-0.5	0.8	0.8	0.8	0.9	0.0	-0.8	0.9	1.0				
CI	-0.7	0.9	0.9	0.9	0.9	0.2	-0.8	0.8	0.9	1.0			
BV	-0.6	0.5	0.7	0.6	0.7	0.3	-0.2	0.5	0.4	0.6	1.0		
DS	0.8	-0.9	-0.9	-0.9	-0.9	-0.4	0.5	-0.7	-0.8	-0.8	-0.8	1.0	
Viscosity	0.5	-0.8	-0.8	-0.8	-0.9	0.3	0.9	-0.7	-0.9	-0.8	-0.7	0.8	1.0

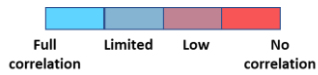


GT: gelatinization time. Onset: onset of the degradation curve of TGA. Tw50 and Tw60: temperature at 50 or 60% weight (TGA). DTG: highest peak of the TGA differential curve. %RC: relative crystallinity (XRD). %V: % amylose type-V (XRD). AOC: amount of crystallinity (FTIR ratio 1044/1035), order: FTIR ratio 1044/1022. CI: crystallinity index (FTIR ratio 995/1022). BV: blue value, DS: degree of substitution of hydroxyls by carboxymethyl functions. The conclusion is that a better correlation was found when comparing the same starch type and that the XRD parameter %V was more representative than the %RC. When comparing different starches, the blue value and viscosity did not correlate.

**Table S 7 Correlation of the parameters measured for powders (P), tablets (T) and films (F).**

**A) All types of modified starches**

Starches	GT	PDTG	P%V	PAOC	Pord	PCI	PBV	PDS	Pvis	TDR	Tsw	Tsol	Taac	Tord	TCI	T%V	Fsol	Faac	Ford	FCI	Fons	FDTG	F%V	
GT	1.0																							
PDTG	-0.8	1.0																						
P%V	0.4	-0.6	1.0																					
PAOC	-0.2	0.5	-0.8	1.0																				
Pord	-0.3	0.4	-0.9	0.9	1.0																			
PCI	-0.7	0.7	-0.8	0.8	0.8	1.0																		
PBV	-0.3	0.3	0.1	0.2	0.1	0.1	1.0																	
PDS	0.7	-0.8	0.1	-0.3	-0.2	-0.4	-0.8	1.0																
Pvis	0.5	-0.2	-0.6	0.5	0.7	0.5	-0.8	0.6	1.0															
TDR	0.7	0.3	-0.6	0.4	0.5	0.4	-0.5	0.0	0.7	1.0														
Tsw	0.5	-0.7	0.4	-0.6	-0.6	-0.6	-0.6	0.6	-0.3	-0.5	1.0													
Tsol	0.5	-0.4	0.3	-0.2	-0.4	-0.4	-0.6	0.6	0.3	0.2	0.5	1.0												
Taac	-0.2	0.2	-0.7	0.8	0.9	0.8	0.1	0.1	0.9	0.4	-0.7	-0.3	1.0											
Tord	-0.2	0.2	-1.0	0.7	0.9	0.8	-0.2	0.2	0.8	0.3	-0.3	-0.3	0.8	1.0										
TCI	0.2	-0.1	-0.6	0.2	0.4	0.2	-0.3	0.2	0.3	-0.1	0.3	-0.3	0.1	0.5	1.0									
T%V	0.4	-0.6	0.9	-0.8	-0.8	-0.8	0.0	0.1	-0.5	-0.5	0.8	0.5	-0.7	-0.8	-0.5	1.0								
Fsol	0.5	-0.8	0.1	-0.1	-0.2	-0.2	-0.6	0.8	0.5	0.3	0.5	0.6	-0.2	-0.2	0.1	0.2	1.0							
Faac	-0.8	0.1	0.5	-0.7	-0.7	-0.5	0.6	-0.9	-0.8	-0.8	0.3		-0.7	-0.6	-1.0	0.8	-0.8	1.0						
Ford	-0.8	0.7	-0.3	-0.1	0.3	0.4	-0.4	0.0	-0.2	0.2	-0.4		0.3	0.2	-0.3	0.2	-0.4	0.2	1.0					
FCI	-0.1	0.1	0.2	0.0	-0.3	-0.3	0.4	-0.7	-0.2	-0.3	0.1		-0.3	-0.1	-0.4	0.2	-0.6	0.6	-0.5	1.0				
Fons	-0.8	0.8	-0.1	0.0	0.1	0.7	0.6	-0.9	0.6	-0.8	-0.8		0.6	0.0	-0.6		-0.5	0.8	0.6	0.2	1.0			
FDTG	-0.6	0.9	-0.2	0.4	0.3	0.8	0.6	-0.9	0.2	-0.8	-0.8		0.7	0.3	-0.5		-0.8	1.0	0.4	0.6	0.9	1.0		
F%V	-0.9	0.2	-0.8	0.2	0.3	0.8	1.0	-0.7	0.9	-0.9	-0.9		0.9	0.2	-0.3		0.0	0.5	0.9	0.2	0.9	0.7	1.0	



**B) Modified High Amylose Starches**

HAS	GT	PDTG	P%V	PAOC	Pord	PCI	PBV	PDS	Pvis	TDR	Tsw	Tsol	Taac	Tord	TCI	T%V	Fsol	Faac	Ford	FCI	Fons	FDTG	F%V	
GT	1.0																							
PDTG	-0.8	1.0																						
P%V	0.5	-0.7	1.0																					
PAOC	-0.4	0.7	-0.7	1.0																				
Pord	-0.5	0.9	-0.8	0.9	1.0																			
PCI	-0.7	0.9	-0.8	0.8	0.9	1.0																		
PBV	-0.6	0.7	-0.2	0.5	0.4	0.6	1.0																	
PDS	0.8	-0.9	0.5	-0.7	-0.8	-0.8	-0.8	1.0																
Pvis	0.5	-0.9	0.9	-0.7	-0.9	-0.8	-0.7	0.8	1.0															
TDR	0.8	-0.8	0.3	-0.4	-0.5	-0.7	-0.9	0.9	0.8	1.0														
Tsw	0.7	-0.9	0.3	-0.6	-0.6	-0.7	-0.9	0.9	0.8	1.0	1.0													
Tsol	0.8	-0.9	0.5	-0.4	-0.7	-0.7	-0.5	0.8	1.0	0.8	0.7	1.0												
Taac	-0.5	0.9	-0.4	0.6	0.7	0.9	0.8	-0.8	-0.9	-0.8	-0.9	-0.7	1.0											
Tord	-0.3	0.7	-0.9	0.6	0.9	0.8	0.2	-0.4	-1.0	-0.4	-0.4	-0.6	0.7	1.0										
TCI	0.0	0.2	-0.7	0.2	0.6	0.2	-0.4	-0.1	-0.8	0.2	0.2	-0.3	0.0	0.6	1.0									
T%V	0.5	-0.9	0.9	-0.8	-0.7	-0.9	-0.7	0.6	0.9	0.8	0.8	0.9	-0.9	-1.0	-0.5	1.0								
Fsol	0.4	-0.9	0.6	-0.7	-0.8	-0.9	-0.6	0.7	1.0	0.7	0.8	0.7	-1.0	-0.8	-0.2	0.9	1.0							
Faac	-0.9	0.7	-1.0	0.1	0.9	0.8	0.8	-0.9	1.0	-1.0	-1.0		0.7	0.5	-0.5		1.0							
Ford	-0.7	0.9	-0.3	-0.9	0.7	0.8	-0.3	0.1	1.0	0.0	-0.2		0.9	-0.7	-1.0		0.2	1.0						
FCI	0.3	-0.6	-0.1	1.0	-0.3	-0.4	0.7	-0.5	1.0	-0.4	-0.2		-0.6	0.9	0.8		0.2	-0.9	1.0					
Fons	-0.8	0.7	-0.1	0.2	0.2	0.7	0.7	-0.9	1.0	-0.8	-0.8		0.6	0.0	-0.5		-0.4	1.0	0.5	-0.1	1.0			
FDTG	-0.4	0.8	-0.3	0.6	0.5	0.8	0.8	-0.9	1.0	-0.8	-0.9		0.8	0.4	-0.3		-0.7	1.0	0.1	0.3	0.9	1.0		
F%V	-1.0	1.0	-1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-1.0	1.0	-1.0	-1.0		1.0	1.0	-1.0		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	



GT: gelatinization time before chemical modification, DTG: temperature at the highest peak on the DTG (TGA), %V: ratio of amylose (XRD), AOC: FTIR ratios 1044/1035, order: FTIR ratio 1044/1022, CI: FTIR ratio 995/1022. Vis: viscosity; sol: solubility, SW: swelling. Blank spaces appear when there are few data with no variation. The conclusion is that the correlation was low when comparing only HAS derivatives but when comparing different starches, the power DTG and powder viscosity were the best parameters to correlate with all the other parameters.

**ANNEXE B**  
**MANUSCRIT D'ARTICLE SUR LE DEGRÉ DE SUBSTITUTION**

**Rapid Estimation of the degree of substitution of carboxymethyl starch with low DS by ATR-FTIR**

**Abstract**

**Context** – The degree of substitution (DS) is an important parameter to characterize the carboxymethylstarch (CMS). The most used method, back-titration, requires the protonation of the sample involving additional steps and generating sample loss. The possibility to quantify the DS with a spectrometric method was investigated.

**Method** – The DS of various CMS were assessed by back-titration and correlated to the intensity of the Fourier Transformed InfraRed (FTIR) band at  $1590\text{ cm}^{-1}$  (carboxylate). Ratios of the bands were obtained using different reference bands to report the  $1590\text{ cm}^{-1}$  band. The impact of the baseline was investigated. Carboxymethyl cellulose (CMC) of high DS, with similar but not identical chemical composition as starch, was also analyzed and used as standard.

**Results** – Good correlation ( $r^2 > 0.995$ ) was found between the DS of CMS and the ratios of the band at  $1590\text{ cm}^{-1}$  and a few reference bands. The experimental level of cross-linking and amination had no impact. The ammonium groups seemed to influence the determination of the carboxymethylation DS. The selected bands used to calculate the ratios were correlated with the values up to DS=0.38 obtained by titration.

**Conclusions** – This FTIR method appears as a rapid and easy procedure to assess the DS with CM functions for CMS, ampholytic starches and CMC without prior treatment. The band ratio 1590/2887 was useful for samples with various protonation degree. Low DS are difficult to assess with precision and are a waste of product (protonation). This method allows a fast and reliable determination of the DS based on the FTIR of reference samples.

**Keywords:** Ampholytic starch, Ionic functions, chemical modifications, carboxyl assay, high amylose starch, starch derivatives, analysis of raw materials

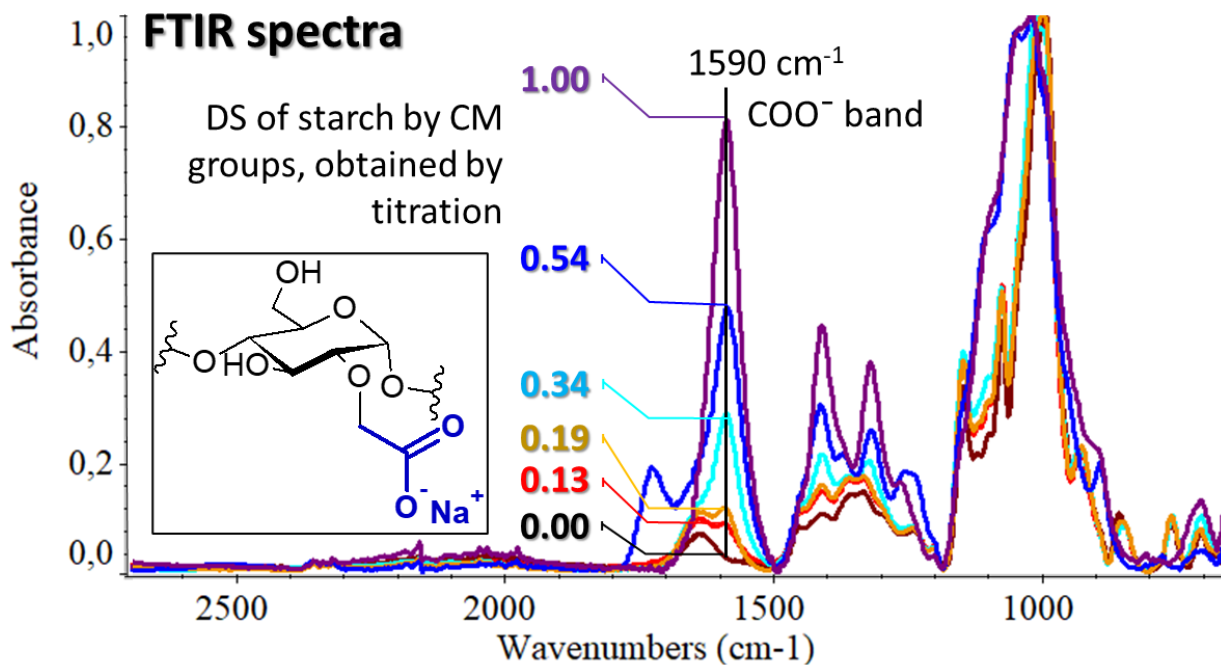
## Highlights

- The DS could be determined by FTIR on samples 'as is' without further preparation.
- The method can be applied also for ampholytic and cross-linked CM-starches.
- Same method may be extended to carboxymethylcellulose derivatives.
- Calculation was done using 2<sup>nd</sup> order quadratic regression.

## Abbreviations

AE: aminoethyl; CEA: chloroethylamine; CL: cross-linked; CM: carboxymethyl; CMS: carboxymethyl starch; DS: degree of substitution; DP: degree of protonation; FTIR: Fourier-transformed infrared; GTMAC: glycidyl trimethylammonium chloride; AGU: anhydro glucose unit; HAS: High amylose starch; SMCA: sodium monochloroacetate; STMP: sodium trimetaphosphate

## Graphical abstract



## B.1. Introduction

The carboxymethyl starch (CMS) is used as pharmaceutical excipient and as a material for biomedical applications (Labelle *et al.*, 2020). The characteristics of CMS may be modulated (*i.e.* by changing the starch type and modification parameters) to suit different excipient functionalities. It is known to generate, by direct compression of powders, strong monolithic matrices with tunable drug release rates as for chronodelivery (Ispas-Szabo *et al.*, 2017), fast disintegration (Bhandari *et al.*, 2013), controlled release (Mulhbacher *et al.*, 2001), intestine-targeted delivery of high drug dosages (Mateescu *et al.*, 2006) of peptides or of probiotics (Calinescu *et al.*, 2005; Calinescu *et al.*, 2007). For protection and delivery of enzymes, monolithic matrices were also obtained by association of CMS and chitosan (Calinescu *et al.*, 2012), or alginate (Blemur *et al.*, 2016). The CMS was used as mucoadhesive and gastroretentive microspheres (Lemieux *et al.*, 2015), degradable hemostatic agent (Panwar *et al.*, 2019), scaffolds (Nita *et al.*, 2020) or microgel for uptake and release of proteins (Zhang *et al.*, 2014).

The uses of CMS extend far beyond the biomedical industry with applications as superabsorbent hydrogel (Muharam *et al.*, 2017) for removal of iron (Pant *et al.*, 2011) or ammonia and phenol (Haq *et al.*, 2020) in aqueous solution. It is a good stabilizer for silver (El-Sheikh, 2014) and selenium (Vishakha *et al.*, 2020) nanoparticles.

Ampholytic starches, also called zwitterionic starches (Chang *et al.*, 2020), are starches carrying cationic (*i.e.* aminoethyl, AE) and anionic functions (mostly CM). The presence of both ionic functions enhances the stabilization of the structure by hydrogen bonding and strong ionic interactions, irrespective of the pH (Benyerbah *et al.*, 2019; Labelle *et al.*, 2020; Sakeer *et al.*, 2018; Sakeer *et al.*, 2017). Ampholytic starch was used as pharmaceutical excipient to form monolithic matrices targeting various intestinal targets, able to achieve high loadings with different types of drugs (Benyerbah *et al.*, 2019; Sakeer *et al.*, 2018) and the controlled-release of highly soluble drugs such as metformin (Sakeer *et al.*, 2017). It was used as antibacterial agent (Yu *et al.*, 2021), and as hemo-compatible nanoparticles for hydrophobic drug delivery with extended circulation time in blood due to reduced aggregation (Ye *et al.*, 2016). Ampholytic starch was also used in water treatment for removal of silica (Matusiak *et al.*, 2020), Cu (II) (Xu *et al.*, 2004), Pb (II) (Xu *et al.*, 2005a), Cr (VI) (Xu *et al.*, 2003), absorption of dyes (Xu *et al.*, 2006) and as flocculant (Lekniute *et al.*, 2013; Lin *et al.*, 2012; Peng *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2014a; Yang *et al.*, 2014b). In the textile industry, it served as an ionic binder (Zhu *et al.*, 2012).

The degree of substitution (DS) is an important parameter impacting the properties (*i.e.* solubility, digestibility, viscosity) of the materials but is not easy to quantify. The DS represents the number of hydroxyls that are substituted for each anhydro glucose unit (AGU), with a maximal value of 3. It is usually measured by invert titration of the protonated samples. The number of moles of titrant used is equivalent to the number of carboxyl groups and is reported to the mass of sample assayed. For this calculation, the water content of the samples should also be measured.

Substitution of hydroxyls with ether functions (Williamson ether synthesis) introduces new properties and changes the behavior of the material. Even at low DS, the minor chemical modifications will trigger major changes at macromolecular level and of the starch properties. For such small modifications, a recurrent problem is the precise determination of the DS. For samples with multiple modifications, the process is even more challenging.

Currently, for titration of CMS, 100 mg of the sample is dissolved in a known amount of aqueous NaOH, heated moderately to accelerate the dissolution. For high amylose starch, the samples may need a stronger heating treatment, increasing the variability (*i.e.* incomplete dissolution, over-heating, different parameter requirements for various samples). Furthermore, for aqueous carboxymethylation, the DS **are usually low** and harder to titrate with precision. All these factors may increase the error and variability of the titration and subsequently the accuracy of the measured DS

Methods for the determination of the DS of CMS by direct titration, back-titration and salt precipitation (with copper) were compared (Stojanović *et al.*, 2005). A disadvantage for direct titration was the water solvent slowing the dissolution of starch. The salt precipitation method uses the salt form, NaCMS. A weighed sample is dissolved in water, CuSO<sub>4</sub> is added and when a precipitate forms, the excess of CuSO<sub>4</sub> is titrated with EDTA. Co-precipitation of the copper, human error and copper oxidation of the reducing end groups may increase the values.

The back-titration was therefore more adequate. The Na content obtained by elemental analysis (flame atomic absorption spectrometry) was well correlated with the titrimetric method (Lawal *et al.*, 2007). Other titrimetric methods to determine the DS of starch with carboxymethyl functions involved the calcination of the sample and titration of resolubilized sodium oxide (Moussa *et al.*, 2019) or conductivity titration (Araki *et al.*, 2001). The advantage of titration is that it will not detect the residual Na from the alkaline gelatinization.

For ampholytic starch, the presence of diverse functional groups may affect the titration of the CM functions conducting to less precise values for DS. It was therefore useful to find new methods for determination of various DS of such starch derivatives.

Many methods are used to assess and confirm the DS. In the case of two or more chemical modifications, the DS measurement becomes fastidious. For low-DS, the usual  $^{13}\text{C}$  NMR in  $\text{D}_2\text{O}$  generates a weak signal and the titration methods conducted to increased standard deviations (Chemelli *et al.*, 2020). The most polyvalent method reported was  $^1\text{H}$  NMR allowing to determine the DS simultaneously for anionic and cationic groups. For starch derivatives with both CM and TMA functional groups, the DS were assessed using  $^1\text{H}$  NMR (Li *et al.*, 2015) but this method is expensive, long and less accessible.

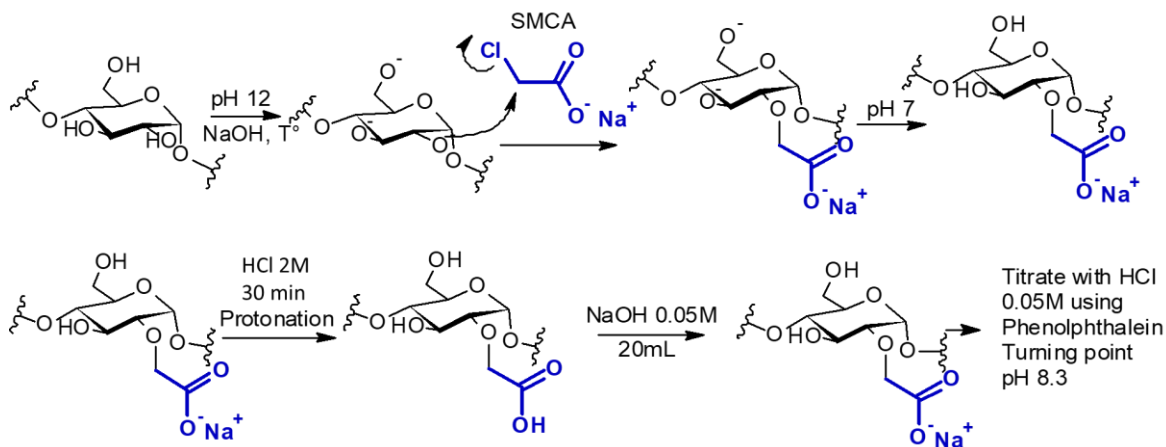
The ATR-FTIR is among the non-destructive and accessible methods for characterization of materials. Upon grafting of CM functions, new bands appeared in FTIR of starch at  $1590\text{ cm}^{-1}$  for the carboxylate  $\text{COO}^-$  and at  $1640\text{ cm}^{-1}$  for the protonated form  $\text{COOH}$ . The determination of DS of CMS by FTIR was only done by using a method of partial least square recovery (Liu *et al.*, 2012).

**The main objective** of this study was to investigate the possibility to use ATR-FTIR to measure the DS of starch with CM functions for various modified starches. The second objective was to understand the impact of additional substituents on the titration of protonated CMS. This study is focused on improving the rapidity to assess the DS of CMS by using a method requiring no sample treatment. The same method was also applied for CM-cellulose derivative (CMC).

## **B.2. Materials and methods**

**B.2.1 Reagents** – Hylon VII<sup>®</sup>, a high amylose corn starch (HAS), was a gift from Ingredion (Westchester, IL, USA), Vivastar<sup>®</sup>, a cross-linked carboxymethyl potato starch sodium salt (NaCMS-CL) was gifted from JRS Pharma (Patterson, NY, USA). Melojel<sup>®</sup> and PenPure60<sup>®</sup> native starches (corn and potato) were gifted by Roquette America Inc. (Keokuk, IA, USA). Chloroethylamine hydrochloride (**CEA**), glycidyltrimethylammonium chloride (**GTMAC**), sodium carboxymethyl cellulose (**CMC**) with MW of 90,000 g/mol, sodium monochloroacetate (**SMCA**) and sodium trimetaphosphate (**STMP**) were reagent-grade and used as received from Millipore Sigma.

**B.2.2 Starch modification** - Starch modification was done as described in a previous work (Labelle *et al.*, 2023). In summary, the alcoholate was formed at pH>12 and then the substitution with CM-groups was done using SMCA (**fig. B.1**). The mixture was neutralized, washed with aqueous methanol and dried with acetone. The reagent ratios are reported in **Table B.1**.



**Figure B.1** Carboxymethylation and the subsequent steps of washing, protonation and titration of uncross-linked CM-starch.

Following the parameters in **Table B.2**, 140 g of starch were suspended in 340 mL water at 55 °C with a benchtop stirrer. Then, 320 mL of 2M NaOH were added. After 20 min of gelatinization, 70 g of sodium monochloroacetate (SMCA) were added.

Nine different derivatives were prepared following the methods reported in previous publications (**Table B.2**). Cross-linking was done by adding **STMP**. The aminoethyl (**AE**) starch was obtained by reacting with chloroethylamine (**CEA**). The modification with trimethylammonium (**TMA**) functions was done using **GTMAC**. For cross-linked HAS, 20g STMP/100g starch were used (HAS-CL20). For other cross-linked derivatives, 10g/100g starch were used (*i.e.* CMHAS-CL10).

After 1h of reaction, the mixtures were neutralized with 2M acetic acid and slowly diluted with 60% MeOH to precipitate the product. For washing, the suspension was decanted and diluted again with 60% MeOH. This step was repeated until the conductivity was less than 50  $\mu$ S. The powder was then mixed with acetone, filtered on a Buchner funnel under vacuum and expanded in pans at ambient humidity and

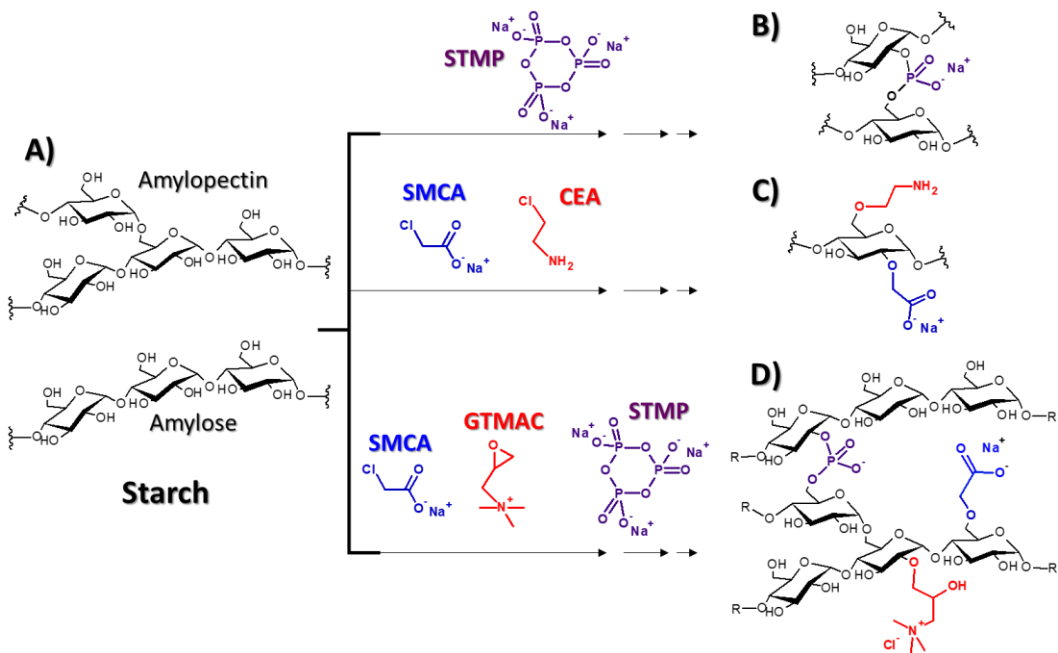


temperature. Water content was measured by TGA and it was found to be between 8 % and 9 % for all the starches, except 12% for potato starch (not reported).

**Table B.1** Reaction parameters related to the literature and the corresponding  $DS_{\text{titr}}$  measured by back-titration.

Type of modification	Physical	Chemical reagents (g reagent/100g starch)			Name	Reference	Degree of substitution obtained by titration ( $DS_{\text{titr}}$ )
Type of Starch	Gelatinization	Cross-linked (g STMP)	Grafting ionic groups				
			Anionic (g SMCA)	Cationic			
HAS	20 min 2M NaOH	20g	-	-	HAS-CL20	(Mulhbacher <i>et al.</i> , 2001)	0.00
		-	50g	-	CMHAS#1		0.15
	60 min Boiled in H <sub>2</sub> O	-	100g	-	CMHAS#2	-	0.34
	60 min 2M NaOH	-	50g	-	CMHAS#3	-	0.19
		10g	75g	GTMAC 97.6mL	TMACMHAS- CL10	(Benyerbah <i>et al.</i> , 2019)	0.35
		-	75g	CEA 75g	AECMHAS	(Sakeer <i>et al.</i> , 2018)	0.22
	20 min 2M NaOH	10g	50g	-	CMHAS- CL10 #2	-	0.19
	Corn	2M NaOH		50g	-	CMCS	(Mulhbacher <i>et al.</i> , 2001)
Potato	10g		50g	-	CMPS-CL10	0.22	

**B.2.3. Determination of the DS by back titration** was done as described previously (Lemieux *et al.*, 2009; Stojanović *et al.*, 2005) with slight modifications. An aliquot of carboxymethylated starch derivative was protonated in 2M HCl for 30 min, filtered and washed. Final pH of powders after full protonation was around 3.2. The total conversion of carboxylate to carboxylic acid was confirmed by disappearance of the FTIR band at 1590  $\text{cm}^{-1}$  (not reported). For each sample, 100 mg were precisely weighed and dissolved in 0.05M NaOH (heated if necessary) and titrated with 20 mL of 0.05 M HCl using phenolphthalein as indicator (**fig. B.1**). The DS was calculated as from literature (Lemieux *et al.*, 2009; Stojanović *et al.*, 2005). Vivastar® and CMC were also used for their medium and high DS. Due to high DS, their protonation was carried in 60% ethanol.



**Figure B.2 Synthesis of modified starches :** A) Structure of the amylose and amylopectin components of native starch. B) Cross-linking of high amylose starch (HAS) with sodium trimetaphosphate (STMP) giving the HAS-CL. C) Carboxymethylation with sodium monochloroacetate (SMCA) and amination with chloroethylamine hydrochloride (CEA) giving the AECMHAS. D) Amination with glycidyltrimethylammonium chloride (GTMAC) plus reaction with SMCA and STMP giving the TMACMHAS-CL.

#### B.2.4. Determination of the DS with Fourier-Transformed InfraRed (FTIR)

FTIR was used to measure the DS after starch carboxymethylation. Spectra were collected on a Nicolet 6700 spectrometer (Thermo Fisher Scientific Inc.) equipped with smart iTR accessory for attenuated total reflectance (ATR). The powders were flattened under the ATR holder arm. Backgrounds were collected frequently from 32 scans at a resolution of  $8\text{ cm}^{-1}$  and subtracted to all samples. The data was analyzed with OMNIC software (Thermo Fisher Scientific Inc.). The  $1590\text{ cm}^{-1}$  band intensity values and ratios obtained using reference bands were compared before and after correction of the spectra. A baseline was applied with points at  $3742$ ,  $3677$ ,  $2991$ ,  $2600$ ,  $2390$ ,  $1753$ ,  $(1515-1500)$ ,  $1193-1186$  and  $810\text{ cm}^{-1}$  (fig. B.3). The baseline was compared with and without a point at  $1500\text{ cm}^{-1}$ , near the C=O band for carboxylate (see figure B.S1).

#### B.2.5. Calculation of the $DS_{\text{ftir}}$ using quadratic regression

A quadratic regression is a statistical method to determine the equation of the parabola that best fits a set of data.

Using Excel, quadratic regressions of 2<sup>nd</sup> order were applied to obtain the a, b and c parameters of the polynomial equation (*i.e.* **fig. B.5**), in the form  $y = ax^2 + bx + c$ . The a, b and c parameters were fitted in the general quadratic formula to give the  $DS_{ftir}$  as in eq. 1.

$$x = DS_{ftir} = \frac{-b \pm \sqrt{(b^2 - 4ac)}}{2a} \quad (Eq. 1)$$

### **B.2.6. NMR studies - Determination of phosphorus content with <sup>31</sup>P solid-state NMR (ssNMR)**

Analyses were done on a Bruker Avance III HD with the Topspin software. The dry samples were weighed and correlated to their signal intensity.

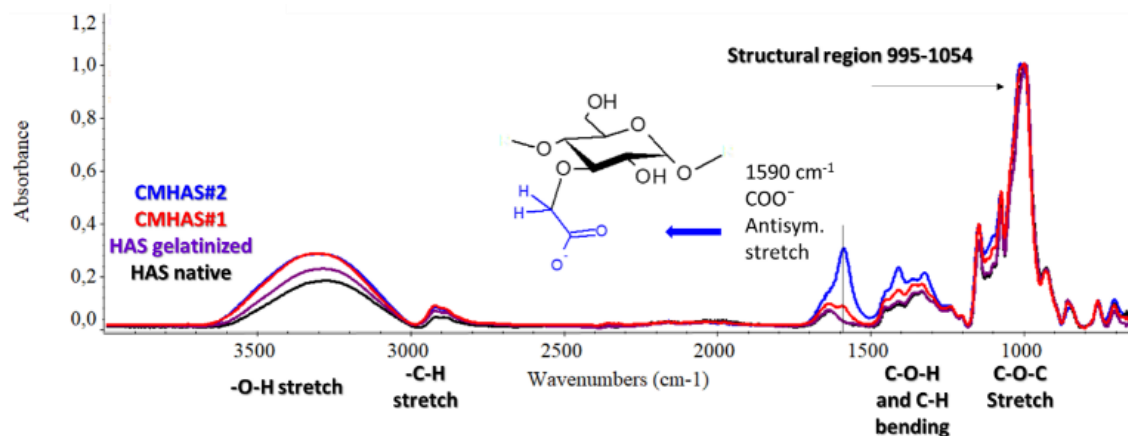
## **B.3. Results and discussion**

### **B.3.1 DS by back-titration**

All samples were accurately weighed at 100.0 mg. Using standardized acid and base solutions, the titration gave reproducible results (**table B.1**). DS of Vivastar<sup>®</sup> was 0.38. DS of CMC was 0.92. The CMC with protonation ratio of 50% had a DS of 0.58. Protonation in methanol 60% was more convenient and should be used for all samples in the future.

### **B.3.2. Correlation of the DS with FTIR data**

The FTIR technique can detect new bands for the C-H of CH<sub>2</sub> and the C-O of COOH generated by carboxymethylation (**fig. B.3**). In the region between 1200-1800 cm<sup>-1</sup>, new bands appeared upon grafting of carboxymethyl groups and seemed to increase in intensity in relation to the DS.



**Figure B.3 FTIR of carboxymethylstarch.** The starch is rich in C-O, C-H and O-H bonds. Upon grafting of carboxymethyl functions, new bands appeared. The main band is the antisymmetric stretch of the carboxylate  $\text{COO}^-$  at  $1590\text{ cm}^{-1}$ . The O-H region between  $3000$  and  $3500\text{ cm}^{-1}$  also changed following gelatinization and chemical modification.

### B.3.2.1. Analysis of the spectra

The change in the spectra after application of baseline was reported in **fig. S1**. A few samples before and after protonation are presented in **fig. S2 and S3**. The new bands observed after derivatization and after protonation are reported in **table B2**. The raw spectra seemed to change with the particle shapes (granules or flaky powders). This may be due to a better contact with the ATR-FTIR crystal when the particles were amorphous (derivatives from aqueous synthesis) than when they were granular (Vivastar®). The intensity variations between spectra, probably related to material size and type, were mostly uniform in the whole spectra. The impact of this variation may be decreased by using the band ratios, especially if the bands used are close to each other.

**Spectra of the carboxymethyl starch sodium salt** - Comparing to Hylon VII®, after carboxymethylation, a new strong band was observed at  $1595\text{ cm}^{-1}$ , attributed to the asymmetric stretching vibration mode of (C=O) in  $\text{COO}^-$ ,  $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$ . At moderate DS, other new bands appeared. One at  $1413\text{ cm}^{-1}$  that was ascribed to symmetric stretch  $\nu_{\text{s}}(\text{C}=\text{O})$ . A second band at  $1330\text{ cm}^{-1}$ , was related to the bending mode  $\delta_{\text{s}}(\text{C}-\text{H})$ , in a  $\text{CH}_2$  (methylene) between an ether linkage and a carboxylate ( $\text{R}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ ). For NaCMC, the structural region ( $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ ) had stronger bands but the other parts of the spectra were similar with those of starch. At high DS, the same bands were found around  $1590$ ,  $1413$  and  $1326\text{ cm}^{-1}$  for  $\nu_{\text{as}}(\text{C}=\text{O})$ ,  $\nu_{\text{s}}(\text{C}=\text{O})$  and  $\delta_{\text{s}}(\text{C}-\text{H})$ . The difference in wavenumbers between the symmetrical and asymmetrical stretch of the carboxylate are representative of their interaction type with the cation metal (Deacon et Phillips, 1980).

The carboxymethylstarch derivatives (CMHAS#1-3) had a difference of 180 cm<sup>-1</sup> between their two bands, significative of ionic interaction with the Na<sup>+</sup> (El Halah et López-Carrasquero, 2020).

**Table B.2 ATR-FTIR assignation of new bands for modified starches**

Native starch	Bands assignation	
<b>Hylon VII® Starting material</b>	3317 $\nu(\text{O-H})$ 2919 $\nu_{\text{as}}(\text{C-H})$ methylene of C-CH <sub>2</sub> -OH 2881 $\nu(\text{C-H})$ of CH 1646 $\delta_{\text{s}}(\text{O-H})$ bending in H-OH (Wang <i>et al.</i> , 2004) 1457 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ sym. def. of CH <sub>2</sub> (C <sub>6</sub> ) 1415 $\omega(\text{C-H})$ wag (out-of-plane bending) of CH <sub>2</sub> 1336 $\rho(\text{O-H})$ rocking in C-O-H and $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ methyne of R-CHOH-R (Nandiyanto <i>et al.</i> , 2019) 1245 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ methyne of R-CHOH-R and (C-O) def. of C-OH (Cael <i>et al.</i> , 1975) 1150 $\nu(\text{C-O})$ stretch of C-OH 1080, 1040, 1022, 995 $\nu(\text{C-O})$ stretch in C-O-C and C-O-H	
Modified starches	New bands at pH 7 after modification, carboxylate form	New bands after protonation pH 3.2, carboxylic acid form
<b>Litterature carboxyl</b>	C=O $\nu_{\text{as}}$ (1510-1650), $\nu_{\text{s}}$ (1280-1400)	$\nu(\text{C=O})$ stretching ~ 1700-1725 $\delta_{\text{s}}(\text{O-H})$ bending ~ 1395-1440 (not observed) $\nu(\text{C-O})$ bending ~ 1320-1210
<b>HAS-CL20</b>	No change	Not done
<b>CMHAS#1</b>	1601 $\nu_{\text{as}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup>	1733 $\nu(\text{C=O})$ in COOH
<b>CMHAS#2</b>	1596 $\nu_{\text{as}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1413 $\nu_{\text{s}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1330 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ in -O-CH <sub>2</sub> -COO <sup>-</sup>	1725 $\nu(\text{C=O})$ in COOH 1239 $\nu(\text{C-O})$ bending in COOH
<b>CMHAS#3</b>	1595 $\nu_{\text{as}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup>	1733 $\nu(\text{C=O})$ in COOH
<b>CMHAS-CL10#2</b>	1592 $\nu_{\text{as}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1410 $\nu_{\text{s}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup>	1730 $\nu(\text{C=O})$ in COOH 1240 $\nu(\text{C-O})$ bending in COOH
<b>AECMHAS</b>	1590 $\nu_{\text{as}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1403 $\nu_{\text{s}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup>	1730 $\nu(\text{C=O})$ in COOH 1240 $\nu(\text{C-O})$ bending in COOH
<b>TMACMHAS-CL10</b>	1592 $\nu_{\text{as}}(\text{C-O})$ in COO <sup>-</sup> 1413 $\nu_{\text{s}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1324 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ in -O-CH <sub>2</sub> -COO <sup>-</sup>	1728 $\nu(\text{C=O})$ in COOH 1236 $\nu(\text{C-O})$ bending in COOH
<b>Vivastar</b>	1586 $\nu_{\text{as}}(\text{C-O})$ in COO <sup>-</sup> 1410 $\nu_{\text{s}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1320 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ in -O-CH <sub>2</sub> -COO <sup>-</sup>	1733 $\nu(\text{C=O})$ in COOH 1362 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ in -O-CH <sub>2</sub> -COOH 1232 $\nu(\text{C-O})$ bending in COOH
<b>CMC</b>	1590 $\nu_{\text{as}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1413 $\nu_{\text{s}}(\text{C=O})$ in COO <sup>-</sup> 1326 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ in -O-CH <sub>2</sub> -COO <sup>-</sup>	1730 $\nu(\text{C=O})$ in COOH 1365 $\delta_{\text{s}}(\text{C-H})$ in -O-CH <sub>2</sub> -COOH 1234 $\nu(\text{C-O})$ bending in COOH

$\nu_{\text{s}}$  = symmetrical stretch,  $\nu_{\text{as}}$  = asymmetrical stretch,  $\delta_{\text{s}}$  = bending (scissoring in-plane),  $\rho$  = rocking (in-plane bending)

**Spectra of the carboxymethyl starch in the acid form** - After protonation, both bands of the C=O disappeared and new bands raised, such as a prominent one at  $1725\text{ cm}^{-1}$  for  $\nu(\text{C}=\text{O})$  of carboxylic acid was found for all derivatives (0.15-0.9). The band  $\nu(\text{C}-\text{O})$  at  $1240\text{ cm}^{-1}$  was second to appear starting with DS 0.2. The band  $\delta_s(\text{C}-\text{H})$  at  $1365\text{ cm}^{-1}$  was seen starting with DS 0.38.

**Impact of the cross-linking on the FTIR spectra** - Insertion of phosphate groups should bring new bands into the FTIR spectra but the cross-linking degree is often low. For cross-linked starches, the bands (C-O, C-H and C-C) are strong in the same regions where P-O bands should appear. For mono-alkyl phosphate, the P-O bond was reported at  $1639\text{ cm}^{-1}$  (Ye et Yan, 2010), overlapping with the water H-OH band. The P=O band is expected at  $1152\text{ cm}^{-1}$  and the P-O-C at  $1015\text{ cm}^{-1}$ . All these regions were strongly overlapped by those of starch but the bands (*i.e.*  $1590\text{ cm}^{-1}$ ) used for calculation of the DS were not impacted.

**The ampholytic derivatives** - After carboxymethylation and substitution with aminoethyl or glycidyl trimethylammonium functions, the bands  $1592$ ,  $1413$  and  $1324\text{ cm}^{-1}$  were the same as for the CMHASs, but with greater intensity. The bands related to the AE and TMA functions were weaker and overlapped by the CM and starch bands. At a higher DS, a band was observed at  $1481\text{ cm}^{-1}$  ascribed to the C-H of the trimethylammonium group (Pi-xin *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2014a) but was indistinct for TMACMHAS-CL10. For AECMHAS, the band at  $1590\text{ cm}^{-1}$  was strong, overlapping at  $1640\text{ cm}^{-1}$ . It was reported that N-H stretch may occur around  $1560\text{ cm}^{-1}$  (Tarchoun *et al.*, 2020). It was completely shifted to  $1730\text{ cm}^{-1}$  after protonation, suggesting that it was solely related to  $\text{COO}^-$ . The AECMHAS also showed a new band at  $1403\text{ cm}^{-1}$  for C-H of the CM group as for other CM-substituted samples with moderate DS. It also seemed shifted to  $1240\text{ cm}^{-1}$  after protonation. For TMACMHAS, the new bands were markedly distinct (**table 2, figure S3**), whereas in literature, only a faint (weak) new band at  $1482\text{ cm}^{-1}$  was reported (Li *et al.*, 2015).

### **B.3.2.1. Impact of the spectra correction on the ratios**

When using the absorbance intensity only, without a reference band, the correlation was low (0.94-0.97), including or not the CMC. To minimize the variation of the band intensities, the possibility of using specific band ratios to calculate a  $\text{DS}_{\text{ftir}}$  was investigated. Then, it was found that the parameters of the baseline could have an impact on the band ratios. The baseline correction is done by selecting points on the spectra to use as 'zero' baseline. For the samples to be comparable, these baseline points must not vary regarding the changes in the sample. In the spectra of low-DS CMS, the minima at  $1500\text{ cm}^{-1}$  seems intuitively a good baseline point but as the DS increases, its absorbance value increases due to the base of the

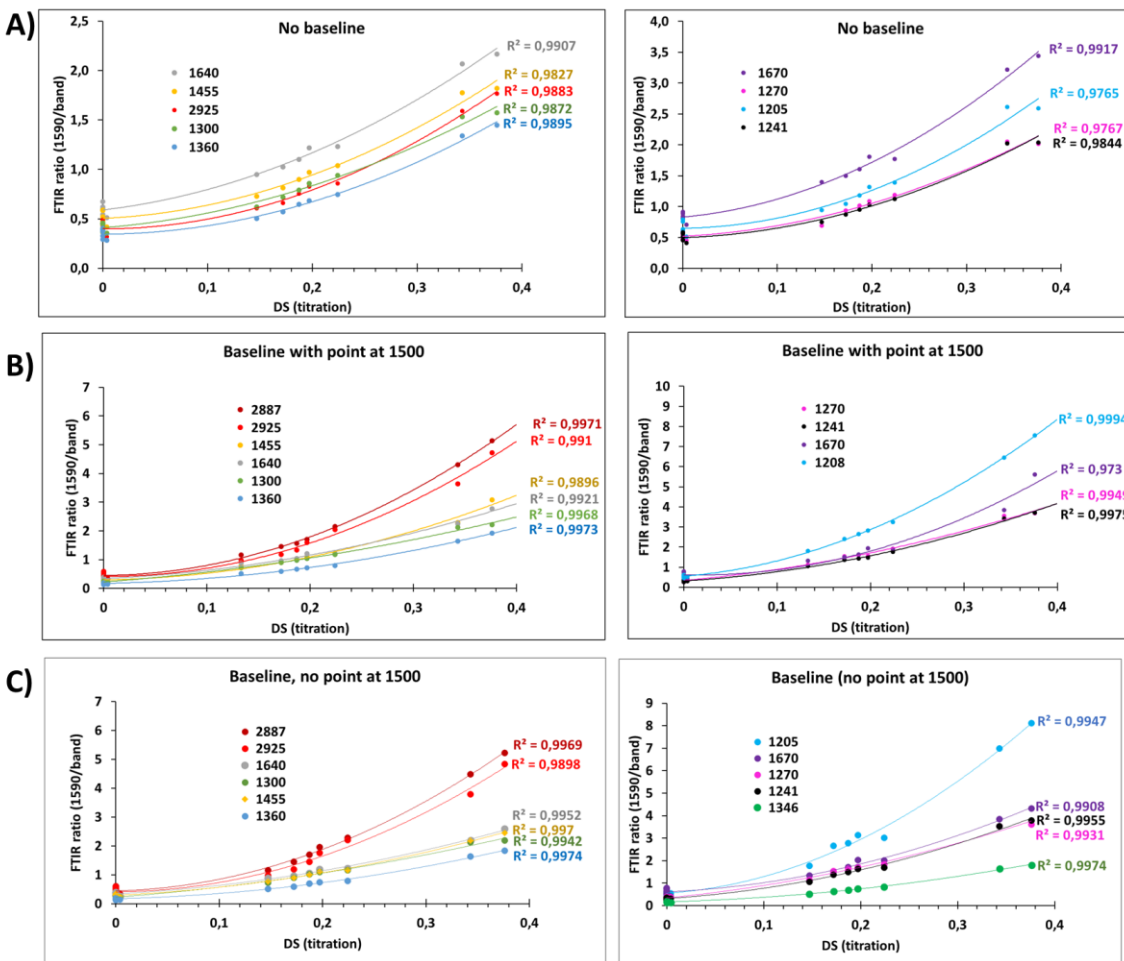
carboxylate band overlapping (**Figs. B.3 and B.S1**). For these reasons, it is clear that the baseline had an important impact on the intensity values of the bands.

The ratios of the band at  $1590\text{ cm}^{-1}$  to other selected reference bands were investigated in relation with the DS, before and after correction with a baseline. The correlation was good for second order quadratic regression when using the synthesized derivatives and Vivastar® (**Fig. B.4**).

At high DS, new bands were observed at  $1416$ ,  $1335$  and  $1243\text{ cm}^{-1}$ . Reference points were selected between these bands at  $1455$ ,  $1360$  and  $1300$ . This region is close to the carboxylate band and less susceptible to spectral change in intensity. The C-H bands ( $2925\text{ cm}^{-1}$  and  $2887\text{ cm}^{-1}$ ) may be impacted by the intensity of the O-H region over  $3000\text{ cm}^{-1}$  that seemed to vary with the sample state (granule, powder), probably due to the level of organization; in the granule, the organization is higher, the hydroxyls are less available for hydrogen bonds with moisture. In the disorganized powder, the chains are more loosely arranged, the hydroxyls are more accessible by moisture and together will form stronger hydrogen bonds.

The baseline point at  $1500\text{ cm}^{-1}$  was impacted by the presence of new chemical functions and generated different ratios when using the bands  $1640\text{ cm}^{-1}$  or  $1455\text{ cm}^{-1}$  as references. At low DS, using this point or not had no impact but at high DS, the absorbance increased at  $1500\text{ cm}^{-1}$  due to the large, flared base of the carboxylate band at  $1590\text{ cm}^{-1}$ . Using a baseline with or without point at  $1500\text{ cm}^{-1}$ , the  $R^2$  values were above 0.99, whereas without baseline they were between 0.98 and 0.99. It is possible that applying the baseline point at  $1500\text{ cm}^{-1}$  could prevent the impact of the new modifications on the band ratios.

In case of samples having both salt and acid forms, the band at  $2925\text{ cm}^{-1}$  was considered. The C-H bands  $2925\text{ cm}^{-1}$  and  $2887\text{ cm}^{-1}$  after baseline correction may be good references for ratio calculation to estimate the DS for any polysaccharide with CM functions. The band at  $2887\text{ cm}^{-1}$  was changed in CMC. The band at  $2925\text{ cm}^{-1}$  was considered a better reference. At high DS, most of the bands were changed.



**Figure B.4** Relation between the FTIR ratios and the DS obtained by back-titration for A) the normalized spectra, B) the spectra with baseline with point at  $1500\text{ cm}^{-1}$  and C) spectra with baseline having no point at  $1500\text{ cm}^{-1}$ .

### B.3.2.2. Determination of the DS of amphotytic starches using the quadratic regression

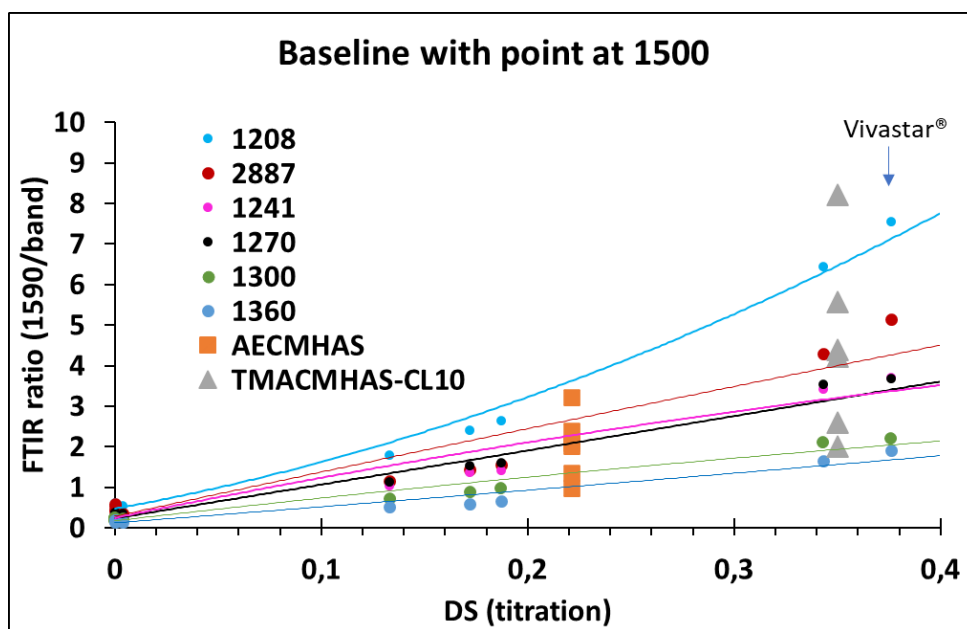
The best correlation coefficients were obtained with the baseline including the point at  $1500\text{ cm}^{-1}$  ( $R^2 > 0.99$ ). The ratios obtained for both amphotytic starches are shown in **fig. B5**. Using the corresponding quadratic regression (2<sup>nd</sup> order) obtained in **fig. 4B**, the  $DS_{\text{FTIR}}$  were calculated and those with  $r^2 > 0.995$  were reported in **table B3**.



The different DS values found with these bands may suggest that some would be impacted by the multiple modifications. The ratios 1590/2887 and 1590/1670 gave the best estimation of the  $DS_{ftir}$ , closer to the  $DS_{titr}$  values and may be more accurate to estimate the DS of starch with multiple modifications.

#### B.4. General discussion

Using samples and commercial products that had already their DS measured by back-titration, the calibration curves of the un-protonated samples were generated (Fig. 5). This method to estimate the DS with FTIR relies on using non-protonated samples (salt form) with known DS in each experiment to generate a standard curve. Such samples with determined DS may be stored and will remain useful standards. Vivastar<sup>®</sup> and other potato starch-based materials as well as some corn starch samples were analyzed (CM-potato or corn starch, cross-linked or not). Therefore, this method seemed useful for any type of starch and enough precise for determination of low DS. The equation was that of quadratic regression (Eq.1), using the a, b and c variables given by the best-fitting parabola of the calibration curve of each band ratio in Excel.



**Figure B.5** Standard curves using different reference bands. The ratios obtained for the ampholytic starches are shown on the calibration with the best correction parameters (baseline with additional point at  $1500\text{ cm}^{-1}$ ).

**Table B.3**  $DS_{\text{ftir}}$  calculated by regression (2<sup>nd</sup> order) using the ratio of the carboxylate band 1590  $\text{cm}^{-1}$  with different reference bands, compared to the  $DS_{\text{titr}}$ . DS obtained using the CMS standard curve.

Reference band	$DS_{\text{ftir}}$						$DS_{\text{titr}}$
	2887	1360	1300	1270	1241	1205	-
AECMHAS	0.24	0.19	0.31	0.15	0.23	0.34	<b>0.22</b>
TMACMHAS-CL10	0.39	0.34	0.45	0.27	0.40	0.60	<b>0.35</b>

The DS has no impact on the ratio when the absorbance value of the reference band remains unchanged when comparing between different DS. It was also possible to determine the moderate DS of commercial CMC using band ratios that were not impacted by the higher DS (mainly 1590/2887 and 1590/1670) and they could be used to dress calibration curves to determine the DS of other polysaccharides. This was valid for DS ranging between 0 and 1 substitution for each glucose unit (maximum of 3), more precisely 0.0 to 0.5.

Obtaining DS values by back titration that correlate with the carboxylate band was more difficult in presence of protonated or partly protonated material and seems a challenge for all carboxylic compound. Using protonated HCMC gave  $DS_{\text{ftir}}$  values with considerable deviation from the  $DS_{\text{titr}}$ . This is mainly because the baseline is affected by the new band of C-O in COOH around 1725  $\text{cm}^{-1}$ . A good baseline relies on areas of the spectra that vary the less between samples, *i.e.* where there is no absorption band or when it is a flat, bottom part of the spectra. When using protonated materials, the position for the baseline point around 1800  $\text{cm}^{-1}$  would need to be investigated because it changes from a valley to a band edge. At high DS, the band 2925  $\text{cm}^{-1}$  seemed more accurate than the band 2887  $\text{cm}^{-1}$ . At low DS, this was not observed.

The obtained  $DS_{\text{ftir}}$  showed variation but a few selected ratios gave results close to the  $DS_{\text{titr}}$ . The  $DS_{\text{ftir}}$  calculated from the ratio 1590/1205 was the same as the  $DS_{\text{titr}}$  for AECMHAS but for TMACMHAS-CL10, it was far from the  $DS_{\text{titr}}$ . This could be related to the ammonium function impacting the band at 1590  $\text{cm}^{-1}$ . It was not seen for AECMHAS. It also seemed that the application of a baseline with a point at 1500  $\text{cm}^{-1}$  improved the correlation of  $DS_{\text{ftir}}$  with  $DS_{\text{titr}}$  for the sample with ammonium functions (*i.e.* TMACMHAS-CL10). The cross-linking had no impact on the ratios, at least for the samples in this study with a low cross-linking degree. The  $DS_{\text{ftir}}$  of the ampholytic starch with aminoethyl functions was close to the  $DS_{\text{titr}}$ . The correlation was less for TMACMHAS-CL10.

To summarize, at  $DS < 0.5$ , the region 1700-1200 was valuable. At  $DS > 0.5$  and for protonated samples, 2925 and 2887 were good alternatives. Protonation can be observed by appearance of a new band around  $1730\text{ cm}^{-1}$ .

## B.5. Conclusion

For ATR-FTIR, the sample are presented as is, easy to clean, no KBr, rapid and with a good resolution. Valorisation of ATR-FTIR-based methods would be useful for many researchers. In this report, a rapid method was developed using ATR-FTIR. It was easily applicable to high amylose starch (HAS) as well as for starch of other sources. It was more convenient than the back-titration that involves slow gelatinization in case of HAS. The ratios 1590/2887 and 1590/1670 gave good correlation with the  $DS_{\text{titr}}$ . It was easy to build a calibration curve for every ratio by using salt form of CMS (or CMC) samples of known DS. The FTIR intensity of the carboxylate band was representative of the DS of the CM functions. The application of a baseline increased the accuracy. The parameters of the baseline were found to have an important impact on this accuracy. As the ratios may vary due to changes in the detector sensitivity, the standard curve may be valid for a while, but it would be suggested to reanalyse the standards after a couple of days.

For ampholytic starches, the estimated  $DS_{\text{ftir}}$  obtained using the ratio 2590/2925 was in good agreement with the DS obtained by back-titration. The band  $1590\text{ cm}^{-1}$  was not impacted for aminoethyl function the but seemed to increase in presence of the trimethylammonium functions.

## B.6. Declarations

**Confidentiality:** the authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement:** Thanks are due to Ingredion, JRS Pharma and Colorcon for the starches.

**Author Contributions:** Methodology, MAL, PIS, MAM; formal analysis, MAL and PIS; data curation, MAL and PIS; writing - original draft preparation, MAL; writing, review and editing, MAL, PIS and MAM; supervision, PIS and MAM; project administration, MAM, funding acquisition, MAM.

**Funding statement:** This work was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC, grant number 06919) and by the Courtois Foundation, Canada. The authors declare no conflict of interest.

## Supplemental Materials

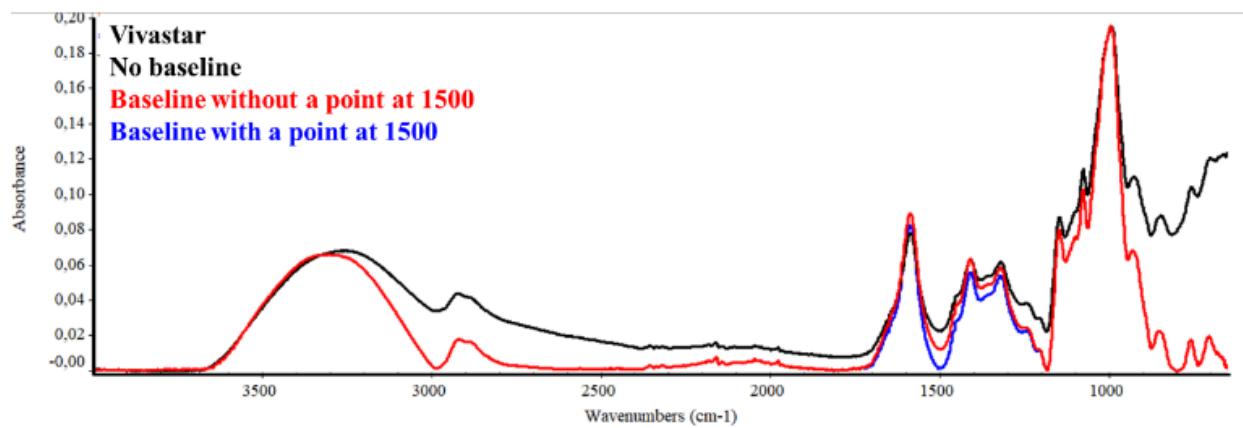
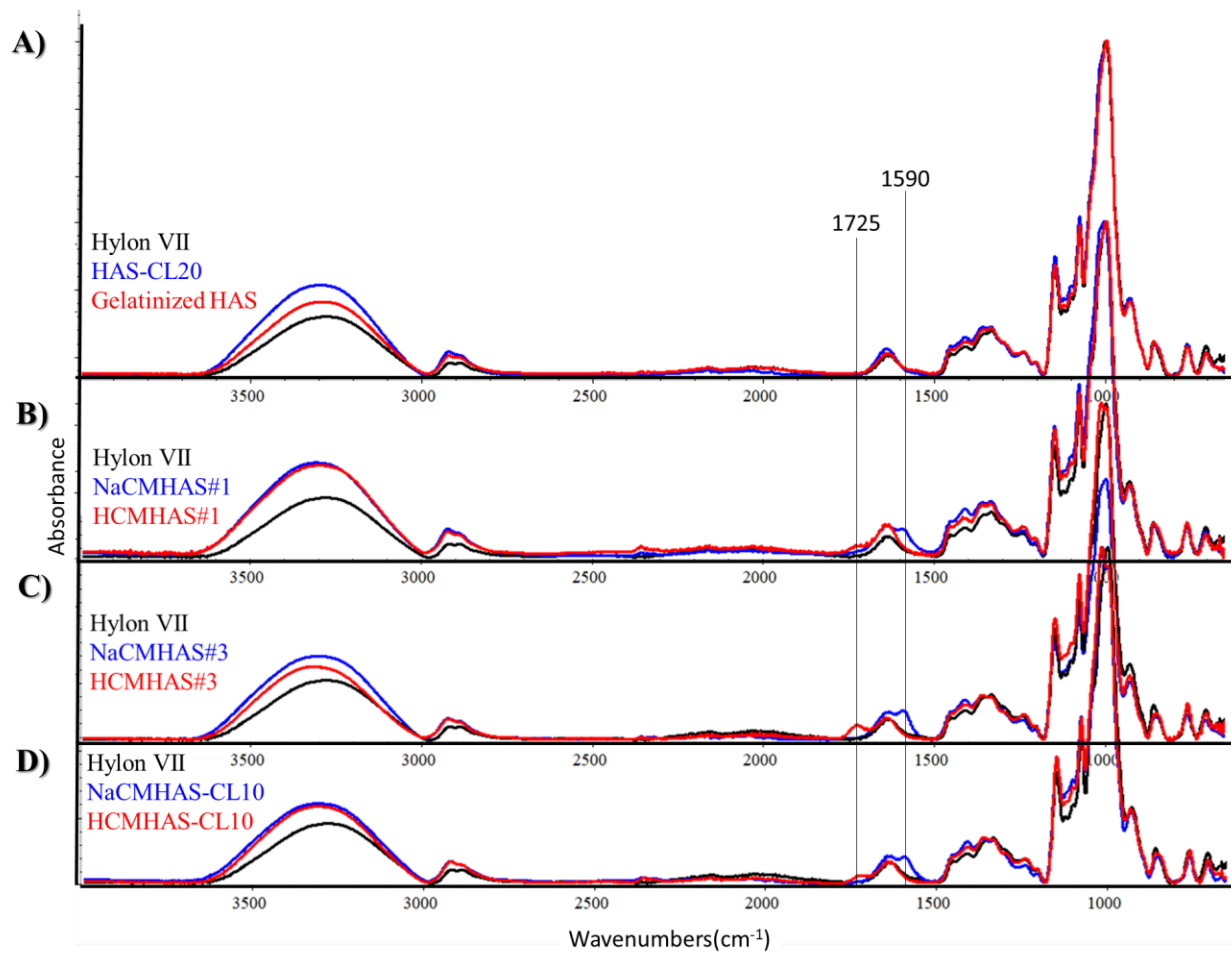


Figure B.S1 – Application of baseline to the samples



**Figure B.S2 – ATR-FTIR spectra of the samples before (blue) and after (red) protonation. All spectra were normalized (strongest band = 1).**

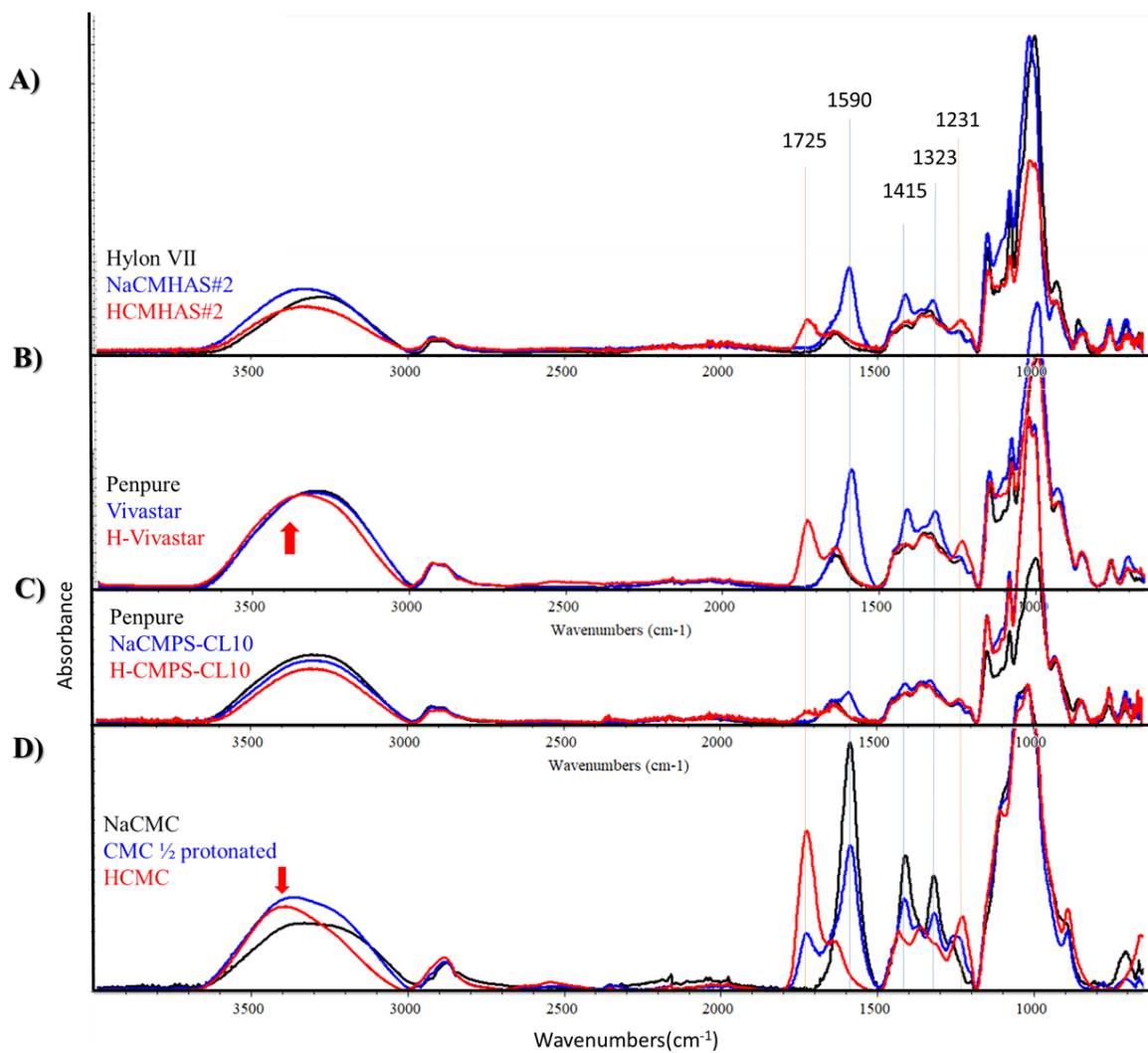


Figure B.S3 – ATR-FTIR spectra of the powders before (blue) and after (red) protonation. The spectra were corrected with a baseline without a zero-point at 1500 cm<sup>-1</sup>.

## APPENDICE 1

### CONTRIBUTION COMME COAUTEUR POUR UN ARTICLE DE RECHERCHE VALORISANT LE CARBOXYMETHYLAMIDON

Synthesis of Metal-Loaded Carboxylated Biopolymers with Antibacterial Activity through Metal Subnanoparticle Incorporation

Farzaneh Noori,<sup>1</sup> Meriem Megoura,<sup>1</sup> Marc-André Labelle,<sup>1</sup> Mircea Alexandru Mateescu,<sup>1,\*</sup> and Abdelkrim Azzouz<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Nanoqam, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Université du Québec à Montréal, Montreal, QC H3C 3P8, Canada;

<sup>2</sup>École de Technologie Supérieure, Montréal, QC H3C 1K3, Canada

\*Correspondence:

Tel.: +1-514-987-4319 (M.A.M.);

+1-514-987-3000 (ext. 4119) (A.A.);

Fax: +1-514-987-4054 (M.A.M. & A.A.)

Publié dans : Antibiotics

Noori, F., Megoura, M., Labelle, M.A., Mateescu, M.A., and Azzouz, A. Synthesis of metal-loaded carboxylated biopolymers with antibacterial activity through metal subnanoparticle incorporation. *Antibiotics (Basel)* **2022**, *11*, 439



Article

# Synthesis of Metal-Loaded Carboxylated Biopolymers with Antibacterial Activity through Metal Subnanoparticle Incorporation

Farzaneh Noori<sup>1</sup>, Meriem Megoura<sup>1</sup>, Marc-André Labelle<sup>1</sup>, Mircea Alexandru Mateescu<sup>1,\*</sup> and Abdelkrim Azzouz<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> Nanoqam, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Université du Québec à Montréal, Montreal, QC H3C 3P8, Canada; noori.farzaneh@courrier.uqam.ca (F.N.); megoura.meriem@courrier.uqam.ca (M.M.); labelle.marc-andre.2@courrier.uqam.ca (M.-A.L.)

<sup>2</sup> École de Technologie Supérieure, Montreal, QC H3C 1K3, Canada

\* Correspondence: mateescu.m-alexandru@uqam.ca (M.A.M.); azzouz.a@uqam.ca (A.A.); Tel.: +1-514-987-4319 (M.A.M.); +1-514-987-3000 (ext. 4119) (A.A.); Fax: +1-514-987-4054 (M.A.M. & A.A.)

**Abstract:** Carboxymethyl starch (CMS) and carboxymethyl cellulose (CMC) loaded by highly dispersed metal subnanoparticles (MSNPs) showed antibacterial activity against *E. coli* and *B. subtilis* strains. Copper and silver were found to act in both cationic and zero-valence forms. The antibacterial activity depends on the metal species content but only up to a certain level. Silver cation ( $\text{Ag}^+$ ) showed higher antibacterial activity as compared to  $\text{Ag}^0$ , which was, however, more effective than  $\text{Cu}^0$ , due to weaker retention. The number of carboxyl groups of the biopolymers was found to govern the material dispersion in aqueous media, the metal retention strength and dispersion in the host-matrices. Cation and metal retention in both biopolymers was found to involve interactions with the oxygen atoms of both hydroxyl and carboxyl groups. There exists a ternary interdependence between the Zeta potential (ZP), pH induced by the biocidal agent and its particle size (PS). This interdependence is a key factor in the exchange processes with the surrounding species, including bacteria. Clay mineral incorporation was found to mitigate material dispersion, due to detrimental competitive clay:polymer interaction. This knowledge advancement opens promising prospects for manufacturing metal-loaded materials for biomedical applications.

**Keywords:** carboxymethyl starch; carboxymethyl cellulose; metal subnanoparticles; antibacterial activity



**Citation:** Noori, F.; Megoura, M.; Labelle, M.-A.; Mateescu, M.A.; Azzouz, A. Synthesis of Metal-Loaded Carboxylated Biopolymers with Antibacterial Activity through Metal Subnanoparticle Incorporation. *Antibiotics* **2022**, *11*, 439. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11040439>

Academic Editors: Roberto Gristina, Rosaria Anna Picca and Maria Chiara Sportelli

Received: 22 February 2022

Accepted: 21 March 2022

Published: 24 March 2022

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Excessive use of conventional organic antibiotics was already recognized as favoring pathogenic microorganism resistance with negative impact on animal and human health [1–4]. Nowadays, this is regarded as being a major environmental issue. The use of highly dispersed metals could be an interesting avenue to explore, since metal nanoparticles (MNPs) have a broad-spectrum activity being efficient against both Gram-positive and Gram-negative microorganisms [5,6]. Their non-selective toxicity arises from the production of a wide variety of reactive oxidative species (ROS) through the oxidative stress induced on microorganisms.

Among many other metals, copper and silver already showed antibacterial activity [6–11] and anticancer properties [12]. These features were found to be improved by high contact surface with microorganisms, but their tendency to aggregate [13–15] is known to affect their toxicity toward bacteria [16,17]. High dispersion into the smallest particles possible by using suitable host-matrices or surfactants bearing highly chelating groups can prevent this drawback [6,18–26]. Therefore, the synthesis of metal subnanoparticles by using carboxymethylated biopolymers was the target of the present work. The novelty core resides less in the synthesis of metal subnanoparticles than in an original approach to correlate the interactions involved between the incorporated metal and the host-matrices with their antibacterial activity. Such an approach has not been tackled so far.

## BIBLIOGRAPHIE

Adamik, K.-N. et Yozova, I. D. (2019). *Starch Wars—New Episodes of the Saga. Changes in Regulations on Hydroxyethyl Starch in the European Union. Front. Vet. Sci., 5, 336*

Adeli, H., Khorasani, M. T. et Parvazinia, M. (2019). *Wound dressing based on electrospun PVA/chitosan/starch nanofibrous mats: Fabrication, antibacterial and cytocompatibility evaluation and in vitro healing assay. Int. J. Biol. Macromol., 122, 238-54*

Aggarwal, P. et Dollimore, D. (1998). *A thermal analysis investigation of partially hydrolyzed starch. Thermochim. Acta, 319, 17-25*

Ahmad, M., Gani, A., Masoodi, F. A. et Rizvi, S. H. (2020). *Influence of ball milling on the production of starch nanoparticles and its effect on structural, thermal and functional properties. Int. J. Biol. Macromol., 151, 85-91*

Ahmad, N., Mehboob, S. et Rashid, N. (2015). *Starch-processing enzymes — emphasis on thermostable 4- $\alpha$ -glucanotransferases. Biologia, 70, 709-25*

Ahmed, A. R., Mota, J. P., Shahba, A. A.-W. et Irfan, M. (2020). *Aqueous polymeric coatings: New opportunities in drug delivery systems. Dans Shegokar, R. (Éd.), Drug Delivery Aspects (p. 33-56) : Elsevier.*

Ainurofiq, A., Mauludin, R., Mudhakir, D., Setianto, A. B. et Soewandhi, S. N. (2018). *The Effect of Compression Force on Alteration of Desloratadine and its Multicomponent Crystal Crystallinities Using X-Ray Diffraction and ATR-FTIR Techniques. Key Eng. Mater., 787, 43-51*

Alcázar Alay, S. C. et Meireles, M. A. (2015). *Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources. Food Science and Technology, 35, 215-36*

Aldas, M., Ferri, J. M., Lopez-Martinez, J., Samper, M. D. et Arrieta, M. P. (2020). *Effect of pine resin derivatives on the structural, thermal, and mechanical properties of Mater-Bi type bioplastic. J. Appl. Polym. Sci., 137, 48236*

Amar-Lewis, E., Azagury, A., Chintakunta, R., Goldbart, R., Traitel, T., Prestwood, J., Landesman-Milo, D., Peer, D. et Kost, J. (2014). *Quaternized starch-based carrier for siRNA delivery: From cellular uptake to gene silencing. J. Control. Release, 185, 109-20*

Araki, J., Wada, M. et Kuga, S. (2001). *Steric Stabilization of a Cellulose Microcrystal Suspension by Poly(ethylene glycol) Grafting. Langmuir, 17, 21-7*

Ashwar, B. A., Gani, A., Gani, A., Shah, A. et Masoodi, F. A. (2018). *Production of RS4 from rice starch and its utilization as an encapsulating agent for targeted delivery of probiotics. Food Chem., 239, 287-94*

Asl, M. A., Karbasi, S., Beigi-Boroujeni, S., Zamanlui Benisi, S. et Saeed, M. (2021). *Evaluation of the effects of starch on polyhydroxybutyrate electrospun scaffolds for bone tissue engineering applications. Int. J. Biol. Macromol., 191, 500-13*

Assaad, E., Blemur, L., Lessard, M. et Mateescu, M. A. (2012). *Polyelectrolyte complex of carboxymethyl starch and chitosan as protein carrier: oral administration of ovalbumin*. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, *23*, 1713-28

Assaad, E. et Mateescu, M. A. (2010). *The influence of protonation ratio on properties of carboxymethyl starch excipient at various substitution degrees: Structural insights and drug release kinetics*. *Int. J. Pharm.*, *394*, 75-84

Assaad, E., Wang, Y. J., Zhu, X. X. et Mateescu, M. A. (2011). *Polyelectrolyte complex of carboxymethyl starch and chitosan as drug carrier for oral administration*. *Carbohydr. Polym.*, *84*, 1399-407

Bader, H. G. et Göritz, D. (1994). *Investigations on high amylose corn starch films. Part 2: water vapor sorption*. *Starch - Stärke*, *46*, 249-52

Bailey, J. M. et Whelan, W. J. (1961). *Physical Properties of Starch: I. Relationship between iodine stain and chain length*. *J. Biol. Chem.*, *236*, 969-73

Bandyopadhyay, R., Selbo, J., Amidon, G. E. et Hawley, M. (2005). *Application of powder X-ray diffraction in studying the compaction behavior of bulk pharmaceutical powders*. *J. Pharm. Sci.*, *94*, 2520-30

Basit, A. W., Podczec, F., Michael Newton, J., Waddington, W. A., Ell, P. J. et Lacey, L. F. (2004). *The use of formulation technology to assess regional gastrointestinal drug absorption in humans*. *Eur. J. Pharm. Sci.*, *21*, 179-89

Basit, A. W., Short, M. D. et McConnell, E. L. (2009). *Microbiota-triggered colonic delivery: Robustness of the polysaccharide approach in the fed state in man*. *J. Drug Target.*, *17*, 64-71

Becelaere, J. V. (1929). *Pharmacy of the ancient Egyptians*. *Cal. West. Med.*, *31*, 47-9

Becker, N. T., Robert, C. I. et Mark, G. S. (1999). *Modified starch coating*. United States : Danisco US Inc. US20020034549A1.

Beilvert, A., Chaubet, F., Chaunier, L., Guilois, S., Pavon-Djavid, G., Letourneur, D., Meddahi-Pellé, A. et Lourdin, D. (2014a). *Shape-memory starch for resorbable biomedical devices*. *Carbohydr. Polym.*, *99*, 242-8

Beilvert, A., Faure, F., Meddahi-Pelle, A., Chaunier, L., Guilois, S., Chaubet, F., Lourdin, D. et Bizeau, A. (2014b). *A resorbable shape-memory starch-based stent for the treatment of salivary ducts under sialendoscopic surgery*. *Laryngoscope*, *124*, 875-81

Benyerbah, N., Ispas-Szabo, P., Sakeer, K., Chapdelaine, D. et Mateescu, M. A. (2019). *Ampholytic and Polyelectrolytic Starch as Matrices for Controlled Drug Delivery*. *Pharmaceutics*, *11*, 253-70

Berens, A. M., Newman, S., Bhrany, A. D., Murakami, C., Sie, K. C. Y. et Zopf, D. A. (2016). *Computer-Aided Design and 3D Printing to Produce a Costal Cartilage Model for Simulation of Auricular Reconstruction*. *Otolaryng. Head Neck*, *155*, 356-9

Bergo, P. V. A., Carvalho, R. A., Sobral, P. J. A., dos Santos, R. M. C., da Silva, F. B. R., Prison, J. M., Solorza-Feria, J. et Habitante, A. M. Q. B. (2008). *Physical properties of edible films based on cassava starch as affected by the plasticizer concentration. Packag. Technol. Sci., 21, 85-9*

Bertoft, E., Piyachomkwan, K., Chatakanonda, P. et Sriroth, K. (2008). *Internal unit chain composition in amylopectins. Carbohydr. Polym., 74, 527-43*

Bertuzzi, M. A., Castro Vidaurre, E. F., Armada, M. et Gottifredi, J. C. (2007). *Water vapor permeability of edible starch based films. J. Food Eng., 80, 972-8*

Besheer, A., Caysa, H., Metz, H., Mueller, T., Kressler, J. et Mäder, K. (2011). *Benchtop-MRI for in vivo imaging using a macromolecular contrast agent based on hydroxyethyl starch (HES). Int. J. Pharm., 417, 196-203*

Bhandari, P. N., Jones, D. D. et Hanna, M. A. (2013). *Characterization of sodium starch glycolate prepared using reactive extrusion and its comparisons with a commercial brand VIVASTAR®P. Ind. Crops Prod., 41, 324-30*

Bhat, R. (2015). *Varying amylose and total starch content in potato tubers derived from Finland and Sweden. (Master thesis). Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Uppsala, Sweden. Biotechnology.*

Biduski, B., Silva, F. T. d., Silva, W. M. d., Halal, S. L. d. M. E., Pinto, V. Z., Dias, A. R. G. et Zavareze, E. d. R. (2017). *Impact of acid and oxidative modifications, single or dual, of sorghum starch on biodegradable films. Food Chem., 214, 53-60*

Biduski, B., Silva, W. M. F. d., Colussi, R., Halal, S. L. d. M. E., Lim, L.-T., Dias, Á. R. G. et Zavareze, E. d. R. (2018). *Starch hydrogels: The influence of the amylose content and gelatinization method. Int. J. Biol. Macromol., 113, 443-9*

Bisharat, L., Barker, S. A., Narbad, A. et Craig, D. Q. M. (2019). *In vitro drug release from acetylated high amylose starch-zein films for oral colon-specific drug delivery. Int. J. Pharm., 556, 311-9*

Björkses, K., Faxälv, L., Montan, C., Wildt-Persson, K., Fyhr, P., Holst, J. et Lindahl, T. L. (2011). *In vitro and in vivo evaluation of chemically modified degradable starch microspheres for topical haemostasis. Acta Biomater., 7, 2558-65*

Blair, S. L., Heerdt, P., Sachar, S., Abolhoda, A., Hochwald, S., Cheng, H. et Burt, M. (1997). *Glutathione metabolism in patients with non-small cell lung cancers. Cancer Res., 57, 152-5*

Blemur, L., Le, T. C., Marcocci, L., Pietrangeli, P. et Mateescu, M. A. (2016). *Carboxymethyl starch/alginate microspheres containing diamine oxidase for intestinal targeting. Biotechnol. Appl. Biochem., 63, 344-53*

Buckler, S. A. et Germino, F. J. (1964). *Amylose film. United States : AMF Inc. US3398015A.*

Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V. et Ball, S. (1998). *Starch granules: structure and biosynthesis. Int. J. Biol. Macromol., 23, 85-112*

Bürmann, J., Devlioti, A., Manitz, M., Bialas, P., Faßbender, K. et Dillmann, U. (2015). *The starch-iodine test in the topodiagnosis of Horner's syndrome with heat hypohidrosis and gustatory sweating. Clin. Neurophysiol.*, 126, e168-9

Cael, J. J., Koenig, J. L. et Blackwell, J. (1975). *Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates. Part VI: Normal coordinate analysis of V-amylose. Biopolymers*, 14, 1885-903

Cai, C., Ma, R., Duan, M., Deng, Y., Liu, T. et Lu, D. (2020). *Effect of starch film containing thyme essential oil microcapsules on physicochemical activity of mango. LWT*, 131, 109700

Calinescu, C. et Mateescu, M. A. (2008). *Carboxymethyl high amylose starch: Chitosan self-stabilized matrix for probiotic colon delivery. Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 70, 582-9

Calinescu, C., Mondovi, B., Federico, R., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2012). *Carboxymethyl starch: Chitosan monolithic matrices containing diamine oxidase and catalase for intestinal delivery. Int. J. Pharm.*, 428, 48-56

Calinescu, C., Mulhbacher, J., Nadeau, E., Fairbrother, J. M. et Mateescu, M. A. (2005). *Carboxymethyl high amylose starch (CM-HAS) as excipient for Escherichia coli oral formulations. Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 60, 53-60

Calinescu, C., Nadeau, E., Mulhbacher, J., Fairbrother, J. M. et Mateescu, M. A. (2007). *Carboxymethyl high amylose starch for F4 fimbriae gastro-resistant oral formulation. Int. J. Pharm.*, 343, 18-25

Capron, I., Robert, P., Colonna, P., Brogly, M. et Planchot, V. (2007). *Starch in rubbery and glassy states by FTIR spectroscopy. Carbohydr. Polym.*, 68, 249-59

Carter, C. (1878). *Improvement in coated compressed medicaments*. United States.

Cartilier, L., Mateescu, M. A., Dumoulin, Y. et Lenaerts, V. (1997). *Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in tablets*. United States US Patent No. 5,616,343.

Castillo, L. A., López, O. V., García, M. A., Barbosa, S. E. et Villar, M. A. (2019). *Crystalline morphology of thermoplastic starch/talc nanocomposites induced by thermal processing. Heliyon*, 5, e01877-e

Chan, S. Y., Goh, C. F., Lau, J. Y., Tiew, Y. C. et Balakrishnan, T. (2019). *Rice starch thin films as a potential buccal delivery system: Effect of plasticiser and drug loading on drug release profile. Int. J. Pharm.*, 562, 203-11

Chang, R., Tian, Y., Yu, Z., Sun, C. et Jin, Z. (2020). *Preparation and characterization of zwitterionic functionalized starch nanoparticles. Int. J. Biol. Macromol.*, 142, 395-403

Charles, S. et L., S. T. (2005). *High gloss film coating and stable solution therefor*. United States : Emerson Resources, Inc. US20060040042.

Charoenthai, N., Wickramanayaka, A., Sungthongjeen, S. et Puttipipatkachorn, S. (2018). *Use of cassava starch nanocrystals to make a robust rupturable pulsatile release pellet. J. Drug Deliv. Sci. Tech.*, 47, 283-90

Cheetham, N. W. H. et Tao, L. (1998). *Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study. Carbohydr. Polym., 36, 277-84*

Chemelli, A., Gomernik, F., Thaler, F., Huber, A., Hirn, U., Bauer, W. et Spirk, S. (2020). *Cationic starches in paper-based applications—A review on analytical methods. Carbohydr. Polym., 235, 115964*

Chen, F., Cao, X., Yu, J., Su, H., Wei, S., Hong, H. et Liu, C. (2017a). *Quaternary Ammonium Groups Modified Starch Microspheres for Instant Hemorrhage Control. Colloids Surf. B. Biointerfaces, 159, 937-44*

Chen, F., Xie, F., Liu, P. et Chen, P. (2019a). *Structure, thermal stability and suspension rheological properties of alcohol–alkali-treated waxy rice starch. Int. J. Biol. Macromol., 134, 397-404*

Chen, Y., Qian, J., Zhao, C., Yang, L., Ding, J. et Guo, H. (2019b). *Preparation and evaluation of porous starch/chitosan composite cross-linking hemostatic. Eur. Polym. J., 118, 17-26*

Chen, Y., Yang, Q., Xu, X., Qi, L., Dong, Z., Luo, Z., Lu, X. et Peng, X. (2017b). *Structure Changes of Waxy and Normal Maize Starches Modified by Heat Moisture Treatment and Their Relationship with Starch Digestibility. Carbohydr. Polym., 177, 232-40*

Chillo, S., Flores, S., Mastromatteo, M., Conte, A., Gerschenson, L. et Del Nobile, M. A. (2008). *Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. J. Food Eng., 88, 159-68*

Choy, S. Y., Prasad, K. N., Wu, T. Y., Raghunandan, M. E. et Ramanan, R. N. (2016). *Performance of conventional starches as natural coagulants for turbidity removal. Ecol. Eng., 94, 352-64*

Co, U. (1954). *Acid esters of starch*. United Kingdom : Pharmacia and Upjohn Co GB810306.

Colivet, J. et Carvalho, R. A. (2017). *Hydrophilicity and physicochemical properties of chemically modified cassava starch films. Ind. Crops Prod., 95, 599-607*

Colussi, R., Pinto, V. Z., El Halal, S. L. M., Biduski, B., Prietto, L., Castilhos, D. D., Zavareze, E. d. R. et Dias, A. R. G. (2017). *Acetylated rice starches films with different levels of amylose: Mechanical, water vapor barrier, thermal, and biodegradability properties. Food Chem., 221, 1614-20*

Constable, P. D., Hinchcliff, K. W., Done, S. H. et Gruenberg, W. (2016). Disturbances of Free Water Electrolytes AcidBase Balance and Oncotic Pressure. Dans *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats* (11 éd.) : Elsevier.

Cortés-Rodríguez, M., Villegas-Yépez, C., Gil González, J. H., Rodríguez, P. E. et Ortega-Toro, R. (2020). *Development and evaluation of edible films based on cassava starch, whey protein, and bees wax. Heliyon, 6, e04884*

Cossu, A., Wang, M. S., Chaudhari, A. et Nitin, N. (2015). *Antifungal activity against Candida albicans of starch Pickering emulsion with thymol or amphotericin B in suspension and calcium alginate films. Int. J. Pharm., 493, 233-42*

Coultate, T. P. (2009). Chapter 3 - Polysaccharides. Dans *Food: The Chemistry of Its Components* (5ième éd., p. 41) : Royal Society of Chemistry.

Cowen, D. L. (2002). *Swallowing the Pill. Apothecary's Cabinet*, 4, 6

Cruz-Benítez, M. M., Gómez-Aldapa, C. A., Castro-Rosas, J., Hernández-Hernández, E., Gómez-Hernández, E. et Fonseca-Florida, H. A. (2019). *Effect of amylose content and chemical modification of cassava starch on the microencapsulation of Lactobacillus pentosus*. *LWT*, 105, 110-7

Cummings, J. H., Milojevic, S., Harding, M., Coward, W. A., Gibson, G. R., Louise Botham, R., Ring, S. G., Wraight, E. P., Stockham, M. A., Allwood, M. C. et Newton, J. M. (1996). *In vivo studies of amylose- and ethylcellulose-coated [<sup>13</sup>C]glucose microspheres as a model for drug delivery to the colon*. *J. Control. Release*, 40, 123-31

Dang, X., Yang, M., Shan, Z., Mansouri, S., May, B. K., Chen, X., Chen, H. et Woo, M. W. (2017). *On spray drying of oxidized corn starch cross-linked gelatin microcapsules for drug release*. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 74, 493-500

Davachi, S. M., Shiroud Heidari, B., Hejazi, I., Seyfi, J., Oliaei, E., Farzaneh, A. et Rashedi, H. (2017). *Interface modified polylactic acid/starch/poly  $\epsilon$ -caprolactone antibacterial nanocomposite blends for medical applications*. *Carbohydr. Polym.*, 155, 336-44

Davis, H. A., Wolff, I. A. et Cluskey, J. E. (1949). *Process of producing amylose films*. United States : Secretary of Agriculture. US128901A.

de Moraes, J. O., Scheibe, A. S., Sereno, A. et Laurindo, J. B. (2013). *Scale-up of the production of cassava starch based films using tape-casting*. *J. Food Eng.*, 119, 800-8

Deacon, G. B. et Phillips, R. J. (1980). *Relationships between the carbon-oxygen stretching frequencies of carboxylato complexes and the type of carboxylate coordination*. *Coord. Chem. Rev.*, 33, 227-50

Delisle, B., Calinescu, C., Mateescu, M. A., Fairbrother, J. M. et Nadeau, E. (2012). *Oral immunization with F4 fimbriae and CpG formulated with carboxymethyl starch enhances F4-specific mucosal immune response and modulates Th1 and Th2 cytokines in weaned pigs*. *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 15, 642-56

Deng, N., Chen, Y., Liang, Z., Bian, Y., Wang, B., Sui, Z., Zhang, X., Yang, K., Zhang, L. et Zhang, Y. (2020). *Ampholine immobilized polymer microspheres for increasing coverage of human urinary proteome*. *Talanta*, 215, 120931

Desai, P. M., Puri, V., Brancazio, D., Halkude, B. S., Hartman, J. E., Wahane, A. V., Martinez, A. R., Jensen, K. D., Harinath, E., Braatz, R. D., Chun, J.-H. et Trout, B. L. (2018). *Tablet coating by injection molding technology – Optimization of coating formulation attributes and coating process parameters*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 122, 25-36

Desevaux, C., Lenaerts, V., Girard, C. et Dubreuil, P. (2002). *Characterization of crosslinked high amylose starch matrix implants. 2. In vivo release of ciprofloxacin*. *J. Control. Release*, 82, 95-103

Dhanya, G. R., Caroline, D. S., Rekha, M. R. et Sreenivasan, K. (2018). *Histidine and arginine conjugated starch-PEI and its corresponding gold nanoparticles for gene delivery*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 120, 999-1008

Dimantov, A., Greenberg, M., Kesselman, E. et Shimoni, E. (2004). *Study of high amylose corn starch as food grade enteric coating in a microcapsule model system*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 5, 93-100

Ding, Y., Lin, Q. et Kan, J. (2018). *Development and characteristics nanoscale retrograded starch as an encapsulating agent for colon-specific drug delivery*. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 171, 656-67

do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., el Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., Fiorentini, A. M. et da Rosa Zavareze, E. (2019). *Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil*. *Carbohydr. Polym.*, 222, 114981

Dokic, P., Dokic, L., Dapčević Hadnađev, T. et Krstonošić, V. (2008). *Colloid Characteristics and Emulsifying Properties of OSA Starches*. Dans Hórvölgyi, Z. D. et Kiss, É. (Éd.), *Colloids for Nano- and Biotechnology* (Vol. 135, p. 48-56).

Dong, H. et Vasanthan, T. (2020). *Effect of phosphorylation techniques on structural, thermal, and pasting properties of pulse starches in comparison with corn starch*. *Food Hydrocolloids*, 109, 106078

Dufresne, A. et Castaño, J. (2017). *Polysaccharide nanomaterial reinforced starch nanocomposites: A review*. *Starch - Stärke*, 69, 1500307

Dulin, W. (2011). *Oral Targeted Drug Delivery Systems: Enteric Coating*. Dans Wen, H. et Park, K. (Éd.), *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery: Theory to Practice* (p. 205-23). New-Jersey : John Wiley & Sons.

Dumoulin, Y., Alex, S., Ispas-Szabo, P., Cartilier, L. et Mateescu, M. A. (1998). *Cross-linked amylose as matrix for drug controlled release. X-ray and FT-IR structural analysis*. *Carbohydr. Polym.*, 37, 361-70

Dumoulin, Y., Clement, P., Mateescu, M. A. et Cartilier, L. (1994). *Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in compressed tablets*. *S.T.P. Pharma Sciences*, 4, 329-35

El-Setouhy, D. A. et El-Malak, N. S. A. (2010). *Formulation of a Novel Tianeptine Sodium Orodispersible Film*. *AAPS PharmSciTech*, 11, 1018-25

El-Sheikh, M. A. (2014). *A Novel Photosynthesis of Carboxymethyl Starch-Stabilized Silver Nanoparticles*. *Sci World J*, 2014, 514563

El Halah, A. et López-Carrasquero, F. (2020). *Synthesis and characterization of Cu(II), Zn(II) and Sm(III) metal complexes with itaconic acid*. *Avances en Química*, 15, 49-56

Endicott, C. J., Martin, W. T. et Werner, L. (1958). *Thin film coating for tablets and the like*. United States : Abbott Laboratories. US2954323A.

Famá, L., Flores, S. K., Gerschenson, L. et Goyanes, S. (2006). *Physical characterization of cassava starch biofilms with special reference to dynamic mechanical properties at low temperatures*. *Carbohydr. Polym.*, 66, 8-15



- Famá, L., Goyanes, S. et Gerschenson, L. (2007). *Influence of storage time at room temperature on the physicochemical properties of cassava starch films*. *Carbohydr. Polym.*, 70, 265-73
- Ferro, M., Castiglione, F., Panzeri, W., Dispenza, R., Santini, L., Karlsson, H. J., de Wit, P. P. et Mele, A. (2017). *Non-destructive and direct determination of the degree of substitution of carboxymethyl cellulose by HR-MAS 13C NMR spectroscopy*. *Carbohydr. Polym.*, 169, 16-22
- Filippov, S. K., Sergeeva, O. Y., Vlasov, P. S., Zavyalova, M. S., Belostotskaya, G. B., Garamus, V. M., Khrustaleva, R. S., Stepanek, P. et Domnina, N. S. (2015). *Modified hydroxyethyl starch protects cells from oxidative damage*. *Carbohydr. Polym.*, 134, 314-23
- Fisher, E. E. et Estes, R. R. (1960). *Hydroxyalkylation of amylose suspension and product produced thereby*. United States : A. E. Staley Manufacturing Company. US3038895A.
- Florence, A. T. (2011). A Short History of Controlled Drug Release and an Introduction. Dans Wilson, C. et J. Crowley, P. (Éd.), *Controlled Release in Oral Drug Delivery* (1 éd., p. 1-26) : Springer.
- Flores-Arriaga, J. C., de Jesus Pozos-Guillen, A., Escobar-Garcia, D. M., Grandfils, C. et Cerda-Cristerna, B. I. (2017). *Cell viability and hemocompatibility evaluation of a starch-based hydrogel loaded with hydroxyapatite or calcium carbonate for maxillofacial bone regeneration*. *Odontology*, 105, 398-407
- Forssell, P., Lahtinen, R., Lahelin, M. et Myllärinen, P. (2002). *Oxygen permeability of amylose and amylopectin films*. *Carbohydr. Polym.*, 47, 125-9
- Freire, C., Podczeczek, F., Ferreira, D., Veiga, F., Sousa, J. et Pena, A. (2010). *Assessment of the in-vivo drug release from pellets film-coated with a dispersion of high amylose starch and ethylcellulose for potential colon delivery*. *J. Pharm. Pharmacol.*, 62, 55-61
- Freire, C., Podczeczek, F., Veiga, F. et Sousa, J. (2009). *Starch-based coatings for colon-specific delivery. Part II: Physicochemical properties and in vitro drug release from high amylose maize starch films*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 72, 587-94
- Friciu, M., Le Tien, C., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2013). *Carboxymethyl starch and lecithin complex as matrix for targeted drug delivery: I. Monolithic mesalamine forms for colon delivery*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 85, 521-30
- Frische, R., Wollmann, K., Gross-Lannert, R., Schneider, J. et Best, B. (1990). *Special amyloses and their use in the production of biologically degradable plastics*. Germany : Battelle-Institut E.V. WO1990013576A1.
- Fukami, K., Kawai, K., Hatta, T., Taniguchi, H. et Yamamoto, K. (2010). *Physical Properties of Normal and Waxy Corn Starches Treated with High Hydrostatic Pressure*. *Journal of Applied Glycoscience*, 57, 67-72
- Galdeano, M. C., Grossmann, M. V. E., Mali, S., Bello-Perez, L. A., Garcia, M. A. et Zamudio-Flores, P. B. (2009). *Effects of production process and plasticizers on stability of films and sheets of oat starch*. *Mater. Sci. Eng. C*, 29, 492-8

García, M., Martino, M. et Zaritzky, N. (1999). *Edible starch films and coatings characterization: Scanning electron microscopy, water vapor, and gas permeabilities*. *Scanning*, 21, 348-53

García, M., Martino, M. et Zaritzky, N. (2000). *Microstructural Characterization of Plasticized Starch - Based Films*. *Starch - Stärke*, 52, 118-24

Garcia, V. A. d. S., Borges, J. G., Maciel, V. B. V., Mazalli, M. R., Lapa-Guimaraes, J. d. G., Vanin, F. M. et de Carvalho, R. A. (2018). *Gelatin/starch orally disintegrating films as a promising system for vitamin C delivery*. *Food Hydrocolloids*, 79, 127-35

Gaudin, S., Lourdin, D., Forssell, P. M. et Colonna, P. (2000). *Antiplasticisation and oxygen permeability of starch-sorbitol films*. *Carbohydr. Polym.*, 43, 33-7

Geister, U., Schweizer, S., Buerger, M., Stefan, R., Huber, G. et Pries, T. (2015). *Oral transmucosal delivery of glatiramer acetate*. United States : ratiopharm GmbH and Teva Pharmaceuticals Inc. US20150328277A1.

Giovannone, D. et De Angelis, C. (2012). *Composition comprising shellac and/or a salt thereof and sodium starch glycolate*. Italy : Gnosis SPA. WO2012014104.

Giri Dev, V. R. et Hemamalini, T. (2018). *Porous electrospun starch rich polycaprolactone blend nanofibers for severe hemorrhage*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 118, 1276-83

Glenn, G. M., Orts, W., Imam, S., Chiou, B.-S. et Wood, D. F. (2014). *Starch Plastic Packaging and Agriculture Applications*. Dans Halley, P. J. et Avérous, L. (Éd.), *Starch Polymers* (p. 421-52). Amsterdam : Elsevier.

Godbillot, L., Dole, P., Joly, C., Rogé, B. et Mathlouthi, M. (2006). *Analysis of water binding in starch plasticized films*. *Food Chem.*, 96, 380-6

Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K. et Delcour, J. A. (2005). *Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality*. *Trends Food Sci. Technol.*, 16, 12-30

Goimil, L., Braga, M. E. M., Dias, A. M. A., Gómez-Amoza, J. L., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., de Sousa, H. C. et García-González, C. A. (2017). *Supercritical processing of starch aerogels and aerogel-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) scaffolds for sustained release of ketoprofen for bone regeneration*. *J. CO2 Util.*, 18, 237-49

Gök, M. K., Demir, K., Cevher, E., Özsoy, Y., Cirit, Ü., Bacinoğlu, S., Özgümüş, S. et Pabuccuoğlu, S. (2017). *The effects of the thiolation with thioglycolic acid and L-cysteine on the mucoadhesion properties of the starch-graft-poly(acrylic acid)*. *Carbohydr. Polym.*, 163, 129-36

Gök, M. K., Özgümüş, S., Demir, K., Cirit, Ü., Pabuccuoğlu, S., Cevher, E., Özsoy, Y. et Bacinoğlu, S. (2016). *Development of starch based mucoadhesive vaginal drug delivery systems for application in veterinary medicine*. *Carbohydr. Polym.*, 136, 63-70

Gómez-Aldapa, C. A., Velazquez, G., Gutierrez, M. C., Rangel-Vargas, E., Castro-Rosas, J. et Aguirre-Loredo, R. Y. (2020). *Effect of polyvinyl alcohol on the physicochemical properties of biodegradable starch films*. *Mater. Chem. Phys.*, 239, 122027

Goodfellow, B. J. et Wilson, R. H. (1990). *A fourier transform IR study of the gelation of amylose and amylopectin*. *Biopolymers*, 30, 1183-9

Gopalsamy, G., Mortimer, E., Greenfield, P., Bird, A. R., Young, G. P. et Christophersen, C. T. (2019). *Resistant Starch is Actively Fermented by Infant Faecal Microbiota and Increases Microbial Diversity*. *Nutrients*, 11, 1345

Griffenhagen, G. et Sonnedecker, G. (1957). *Apothecary: A History of Sugar Coated Pills and Tablets*. *J Amer. Pharm. Assoc. P. P.*, 18, 553-5

Griffin, G. J. L. (1976). *Synthetic resin sheet material*. United States : Coloroll Limited. US4021388A.

Güler, M. A., Gök, M. K., Figen, A. K. et Özgümüş, S. (2015). *Swelling, mechanical and mucoadhesion properties of Mt/starch-g-PMAA nanocomposite hydrogels*. *Appl. Clay Sci.*, 112-113, 44-52

Gulian, C., Szymczak, C., Gowan, W. G., Parekh, K. B., Morris, J. M., Markley, T. J., Wiend, D., McNally, G. P., Paplini, M., Chen, J.-C. et Bunick, F. J. (2002). *Dip coating compositions containing starch or dextrin*. New Zealand : McNeil-PPC, Inc. NZ518951.

Gutiérrez, T. J., Tapia, M. S., Pérez, E. et Famá, L. (2015). *Structural and mechanical properties of edible films made from native and modified cush-cush yam and cassava starch*. *Food Hydrocolloids*, 45, 211-7

Hadisi, Z., Nourmohammadi, J. et Mohammadi, J. (2015). *Composite of porous starch-silk fibroin nanofiber-calcium phosphate for bone regeneration*. *Ceram. Int.*, 41, 10745-54

Hadisi, Z., Nourmohammadi, J. et Nassiri, S. M. (2018). *The antibacterial and anti-inflammatory investigation of Lawsonia Inermis-gelatin-starch nano-fibrous dressing in burn wound*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 107, 2008-19

Haeusler, O., Wils, D., Siepmann, J. et Karrou, Y. (2003). *Water insoluble polymer: modified starch derivative-based film coatings for colon targeting*. United Kingdom : Roquette Freres SA. EP2179727A1.

Hakansson, L., Hakansson, A., Morales, O., Thorelius, L. et Warfving, T. (1997). *Spherex (degradable starch microspheres) chemo-occlusion--enhancement of tumor drug concentration and therapeutic efficacy: an overview*. *Semin. Oncol.*, 24, S6-100-9

Hamaji, A., Hajjar, L., Caiero, M., Almeida, J., Nakamura, R. E., Osawa, E. A., Fukushima, J., Galas, F. R. et Auler Junior, J. O. (2013). *Volume replacement therapy during hip arthroplasty using hydroxyethyl starch (130/0.4) compared to lactated Ringer decreases allogeneic blood transfusion and postoperative infection*. *Braz. J. Anesthesiol.*, 63, 27-35

Haq, F., Yu, H., Wang, Y., Wang, L., Haroon, M., Khan, A., Mehmood, S., Bilal UI, A. et Lin, T. (2020). *Synthesis of carboxymethyl starch grafted poly (methacrylic acids) (CMS-g-PMAAs) and their application as an adsorbent for the removal of ammonia and phenol*. *J. Mol. Struct.*, 1207, 127752

Haque, S. E. et Sheela, A. (2015). *Development of polymer-bound fast-dissolving metformin buccal film with disintegrants*. *Int. J. Nanomedicine*, 10 Suppl 1, 199-205

Heinze, T., Pfeiffer, K., Liebert, T. et Heinze, U. (1999). *Effective Approaches for Estimating the Functionalization Pattern of Carboxymethyl Starch of Different Origin. Starch - Stärke, 51, 11-6*

Hernández-López, Z., Rangel-Vargas, E., Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C. A., Cadena-Ramírez, A., Acevedo-Sandoval, O. A., Gordillo-Martínez, A. J. et Falfán-Cortés, R. N. (2018). *Optimization of a spray-drying process for the production of maximally viable microencapsulated Lactobacillus pentosus using a mixture of starch-pulque as wall material. LWT, 95, 216-22*

Hoffmann, S., Caysa, H., Kuntsche, J., Kreideweiß, P., Leimert, A., Mueller, T. et Mäder, K. (2013). *Carbohydrate plasma expanders for passive tumor targeting: In vitro and in vivo studies. Carbohydr. Polym., 95, 404-13*

Hostettler, C., Kölling, K., Santelia, D., Streb, S., Kötting, O. et Zeeman, S. (2011). *Analysis of Starch Metabolism in Chloroplasts. Meth. Mol. Biol., 775, 387-410*

Hu, X., Jia, X., Zhi, C., Jin, Z. et Miao, M. (2019). *Improving properties of normal maize starch films using dual-modification: Combination treatment of debranching and hydroxypropylation. Int. J. Biol. Macromol., 130, 197-202*

Huang, J., Lin, L., Wang, J., Wang, Z., Liu, Q. et Wei, C. (2016). *In vitro digestion properties of heterogeneous starch granules from high-amylose rice. Food Hydrocolloids, 54, 10-22*

Huang, X., Li, X., Chen, L. et Li, L. (2017). *Spermine modified starch-based carrier for gene delivery: Structure-transfection activity relationships. Carbohydr. Polym., 173, 690-700*

Huneault, L., Lussier, B., Dubreuil, P., Chouinard, L. et Désévaux, C. (2004). *Prevention and treatment of experimental osteomyelitis in dogs with ciprofloxacin-loaded crosslinked high amylose starch implants. J. Orthop. Res., 22, 1351-7*

Hunt, H. V., Moots, H. M., Graybosch, R. A., Jones, H., Parker, M., Romanova, O., Jones, M. K., Howe, C. J. et Trafford, K. (2013). *Waxy phenotype evolution in the allotetraploid cereal broomcorn millet: mutations at the GBSSI locus in their functional and phylogenetic context. Mol. Biol. Evol., 30, 109-22*

Ibekwe, V. C., Khela, M. K., Evans, D. F. et Basit, A. W. (2008). *A new concept in colonic drug targeting: a combined pH-responsive and bacterially-triggered drug delivery technology. Aliment. Pharm. Ther., 28, 911-6*

Isotton, F. S., Bernardo, G. L., Baldasso, C., Rosa, L. M. et Zeni, M. (2015). *The plasticizer effect on preparation and properties of etherified corn starches films. Ind. Crops Prod., 76, 717-24*

Ispas-Szabo, P., De Koninck, P., Calinescu, C. et Mateescu, M. A. (2017a). *Carboxymethyl Starch Excipients for Drug Chronodelivery. AAPS PharmSciTech, 18, 1673-82*

Ispas-Szabo, P., Labelle, M. A. et Mateescu, M. A. (2017b). *Self-Assembling Phenomena: From Excipients to Drugs. J. Chem, Allied Res., 1, 28-36*

Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2017). *Carboxymethyl starch - an excipient for drug chronodelivery. Pharma Horizon, 1, 45-8*

Ispas-Szabo, P., Ravenelle, F., Hassan, I., Preda, M. et Mateescu, M. A. (2000). *Structure-properties relationship in cross-linked high-amylose starch for use in controlled drug release. Carbohydr. Res., 323, 163-75*

Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., McPherson, A. E., Wong, K. S., Radosavljevic, M. et Kasemsuwan, T. (1999). *Effects of Amylopectin Branch Chain Length and Amylose Content on the Gelatinization and Pasting Properties of Starch. Cereal Chem., 76, 629-37*

Jeon, J. S., Ryoo, N., Hahn, T. R., Walia, H. et Nakamura, Y. (2010). *Starch biosynthesis in cereal endosperm. Plant Physiol. Biochem., 48, 383-92*

Jha, P. (2020). *Effect of grapefruit seed extract ratios on functional properties of corn starch-chitosan bionanocomposite films for active packaging. Int. J. Biol. Macromol., 163, 1546-56*

Jiang, H., Campbell, M., Blanco, M. et Jane, J.-L. (2010). *Characterization of maize amylose-extender (ae) mutant starches: Part II. Structures and properties of starch residues remaining after enzymatic hydrolysis at boiling-water temperature. Carbohydr. Polym., 80, 1-12*

Johnson, J. L. (2005). Pharmaceutical tablet coating. Dans Tracton, A. A. (Éd.), *Coatings Technology Handbook* (3eme éd., p. 112-1 à -3) : CRC Press.

Kang, B., Okwieka, P., Schöttler, S., Seifert, O., Kontermann, R. E., Pfizenmaier, K., Musyanovych, A., Meyer, R., Diken, M., Sahin, U., Mailänder, V., Wurm, F. R. et Landfester, K. (2015). *Tailoring the stealth properties of biocompatible polysaccharide nanocontainers. Biomaterials, 49, 125-34*

Karrout, Y., Neut, C., Daniel, W., Siepmann, F., Deremaux, L., Flament, M.-P., Dubreuil, L., Desreumaux, P. et Siepmann, J. (2011). *Peas Starch-Based Film Coatings for Site-Specific Drug Delivery to the Colon. J. Appl. Polym. Sci., 119, 1176-84*

Karrout, Y., Neut, C., Siepmann, F., Wils, D., Ravaux, P., Deremaux, L., Flament, M. P., Dubreuil, L., Lemdani, M., Desreumaux, P. et Siepmann, J. (2010a). *Enzymatically degraded Eurylon 6 HP-PG: ethylcellulose film coatings for colon targeting in inflammatory bowel disease patients. J. Pharm. Pharmacol., 62, 1676-84*

Karrout, Y., Neut, C., Wils, D., Siepmann, F., Deremaux, L., Dubreuil, L., Desreumaux, P. et Siepmann, J. (2009). *Colon targeting with bacteria-sensitive films adapted to the disease state. Eur. J. Pharm. Biopharm., 73, 74-81*

Karrout, Y., Neut, C., Wils, D., Siepmann, F., Deremaux, L., Flament, M. P., Dubreuil, L., Desreumaux, P. et Siepmann, J. (2010b). *Enzymatically activated coated multiparticulates containing theophylline for colon targeting. J. Drug Deliv. Sci. Tech., 20, 193-9*

Kechichian, V., Ditchfield, C., Veiga-Santos, P. et Tadini, C. C. (2010). *Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. LWT-Food Sci. Technol., 43, 1088-94*

Keller, P. E. et Kouzes, R. T. (2017). *Water Vapor Permeation in Plastics*. (PNNL-26070). Richland, WA (United States) : Pacific Northwest National Lab. Récupéré de <https://www.osti.gov/servlets/purl/1411940>

- Khachatryan, G., Krzeminska-Fiedorowicz, L., Nowak, E. et Fiedorowicz, M. (2014). *Molecular structure and physicochemical properties of Hylon V and Hylon VII starches illuminated with linearly polarised visible light. LWT-Food Sci. Technol., 58, 256-62*
- Khan, B., Khan Niazi, M. B., Jahan, Z., Farooq, W., Naqvi, S. R., Ali, M., Ahmed, I. et Hussain, A. (2019). *Effect of ultra-violet cross-linking on the properties of boric acid and glycerol co-plasticized thermoplastic starch films. Food Packag. Shelf Life, 19, 184-92*
- Khan, M. N. et Naqvi, A. H. (2006). *Antiseptics, iodine, povidone iodine and traumatic wound cleansing. J. Tissue Viability, 16, 6-10*
- Khlibsuwan, R., Tansena, W. et Pongjanyakul, T. (2018). *Modification of alginate beads using gelatinized and ungelatinized arrowroot (Tacca leontopetaloides L. Kuntze) starch for drug delivery. Int. J. Biol. Macromol., 118, 683-92*
- Kittipongpatana, N. et Kittipongpatana, O. S. (2015). *Cross-linked carboxymethyl mung bean starch as pharmaceutical gelling agent and emulsion stabilizer. Int. J. Pharm. Pharm. Sci., 7, 403-7*
- Klug, E. D. (1960). *Amylaceous compositions for shaped articles and process*. United States : Hercules Powder Co. US3117014A.
- Knight, A. T. (1990). *Starch derived shaped articles*. Australia : Goodman Fielder Wattie Australia Ltd. WO1990014938A1.
- Koenig, M. F. et Huang, S. J. (1995). *Biodegradable blends and composites of polycaprolactone and starch derivatives. Polymer, 36, 1877-82*
- Kong, L. et Ziegler, G. (2014). *Molecular encapsulation of ascorbyl palmitate in preformed V-type starch and amylose. Carbohydr. Polym., 111, 256-63*
- Koski, C., Onuiké, B., Bandyopadhyay, A. et Bose, S. (2018). *Starch-Hydroxyapatite Composite Bone Scaffold Fabrication Utilizing a Slurry Extrusion-Based Solid Freeform Fabricator. Addit. Manuf., 24, 47-59*
- Krempel, M., Griffin, K. et Houryieh, H. (2019). 13 - Hydrocolloids as Emulsifiers and Stabilizers in Beverage Preservation. Dans Grumezescu, A. M. et Holban, A. M. (Éd.), *Preservatives and Preservation Approaches in Beverages* (p. 427-65) : Academic Press.
- Krogars, K., Antikainen, O., Heinämäki, J., Laitinen, N. et Yliruusi, J. (2002a). *Tablet film-coating with amylose-rich maize starch. Eur. J. Pharm. Sci., 17, 23-30*
- Krogars, K., Heinämäki, J. T., Yliruusi, J. K., Myllärinen, P., Forssell, P. et Lahtinen, R. (2002b). *Method for preparing an aqueous coating dispersion of starch and an aqueous coating dispersion of starch prepared by that method*. Finland : Licentia OY. WO2002092708A1.
- Kumar, K. J., Varma, C. A. K. et Panpalia, S. G. (2014). *Physicochemical and release characteristics of acetylated Indian palmyrah retrograded shoot starch. Int. J. Biol. Macromol., 69, 108-13*

La Fuente, C. I. A., de Souza, A. T., Tadini, C. C. et Augusto, P. E. D. (2019). *Ozonation of cassava starch to produce biodegradable films*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 141, 713-20

Labelle, M.-A. (2018). *Le sulfate de baryum comme traceur pour suivre l'état et le transit intestinal des comprimés monolithiques administrés oralement*. Université du Québec à Montréal. Montréal. Maîtrise en chimie.

Labelle, M.-A., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2020). *Structure-Functions Relationship of Modified Starches for Pharmaceutical and Biomedical Applications*. *Starch - Stärke*, 72, 2000002

Labelle, M.-A., Ispas-Szabo, P., Tajer, S., Xiao, Y., Barbeau, B. et Mateescu, M. A. (2023). *Anionic and Ampholytic High-Amylose Starch Derivatives as Excipients for Pharmaceutical and Biopharmaceutical Applications: Structure-Properties Correlations*. *Pharmaceutics*, 15,

Labelle, M. A., Ispas-Szabo, P., Masseau, I., Chorfi, Y. et Mateescu, M. A. (2019). *In vivo evaluation of targeted delivery of biological agents using barium sulfate*. *Int. J. Pharm.*, 572, 118801

Lancuški, A., Abu Ammar, A., Avrahami, R., Vilensky, R., Vasilyev, G. et Zussman, E. (2017). *Design of starch-formate compound fibers as encapsulation platform for biotherapeutics*. *Carbohydr. Polym.*, 158, 68-76

Lawal, O. S., Lechner, M. D., Hartmann, B. et Kulicke, W.-M. (2007). *Carboxymethyl Cocoyam Starch: Synthesis, Characterisation and Influence of Reaction Parameters*. *Starch - Stärke*, 59, 224-33

Lawal, O. S., Lechner, M. D. et Kulicke, W. M. (2008). *Single and multi-step carboxymethylation of water yam (*Dioscorea alata*) starch: Synthesis and characterization*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 42, 429-35

Lawal, O. S., Storz, J., Storz, H., Lohmann, D., Lechner, D. et Kulicke, W.-M. (2009). *Hydrogels based on carboxymethyl cassava starch cross-linked with di- or polyfunctional carboxylic acids: Synthesis, water absorbent behavior and rheological characterizations*. *Eur. Polym. J.*, 45, 3399-408

Le Corre, D. et Angellier-Coussy, H. (2014). *Preparation and application of starch nanoparticles for nanocomposites: A review*. *React. Funct. Polym.*, 85, 97-120

Le Corre, D., Bras, J. et Dufresne, A. (2011). *Influence of botanic origin and amylose content on the morphology of starch nanocrystals*. *J. Nanopart. Res.*, 13, 7193-208

Le Tien, C. et Mateescu, M. A. (2017). *Two release rates from monolithic carboxymethyl starch tablets: formulation, characterization, and in vitro/in vivo evaluation*. *Drug Deliv. Transl. Res.*, 7, 516-28

Lefevre, P., Francois, A., Facon, P., Quettier, C. et Parissaux, X. (2003). *Film-forming starchy composition*. France : Roquette Freres. CA2545961C.

Lefnaoui, S. et Moulai-Mostefa, N. (2014). *Investigation and optimization of formulation factors of a hydrogel network based on kappa carrageenan–pregelatinized starch blend using an experimental design*. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects*, 458, 117-25

- Lekniute, E., Peculyte, L., Klimaviciute, R., Bendoraitiene, J. et Zemaitaitis, A. (2013). *Structural characteristics and flocculation properties of amphoteric starch. Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects*, 430, 95-102
- Lemieux, M., Bouchard, F., Gosselin, P., Paquin, J. et Mateescu, M. A. (2011). *The NCI-N87 cell line as a gastric epithelial barrier model for drug permeability assay. Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 412, 429-34
- Lemieux, M., Gosselin, P. et Mateescu, M. A. (2009). *Carboxymethyl high amylose starch as excipient for controlled drug release: mechanistic study and the influence of degree of substitution. Int. J. Pharm.*, 382, 172-82
- Lemieux, M., Gosselin, P. et Mateescu, M. A. (2010). *Influence of drying procedure and of low degree of substitution on the structural and drug release properties of carboxymethyl starch. AAPS PharmSciTech*, 11, 775-85
- Lemieux, M., Gosselin, P. et Mateescu, M. A. (2015). *Carboxymethyl starch mucoadhesive microspheres as gastroretentive dosage form. Int. J. Pharm.*, 496, 497-508
- Lemos, P. V. F., Barbosa, L. S., Ramos, I. G., Coelho, R. E. et Druzian, J. I. (2019). *Characterization of amylose and amylopectin fractions separated from potato, banana, corn, and cassava starches. Int. J. Biol. Macromol.*, 132, 32-42
- Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., Mateescu, M. A., Cartilier, L. et Marchessault, R. (1998). *Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances. J. Control. Release*, 53, 225-34
- Li, C., Dhital, S., Gilbert, R. G. et Gidley, M. J. (2020). *High-amylose wheat starch: Structural basis for water absorption and pasting properties. Carbohydr. Polym.*, 245, 116557
- Li, H., Cai, T., Yuan, B., Li, R., Yang, H. et Li, A. (2015). *Flocculation of Both Kaolin and Hematite Suspensions Using the Starch-Based Flocculants and Their Floc Properties. Ind. Eng. Chem. Res.*, 54, 59-67
- Li, H., Thuy Ho, V. T., Turner, M. S. et Dhital, S. (2016). *Encapsulation of Lactobacillus plantarum in porous maize starch. LWT*, 74, 542-9
- Li, J. H., Vasanthan, T., Hoover, R. et Rosnagel, B. G. (2003). *Starch from Hull-less Barley: Ultrastructure and Distribution of Granule-Bound Proteins. Cereal Chem.*, 80, 524-32
- Li, Q., Wu, Q.-Y., Jiang, W., Qian, J.-Y., Zhang, L., Wu, M., Rao, S.-Q. et Wu, C.-S. (2019). *Effect of pulsed electric field on structural properties and digestibility of starches with different crystalline type in solid state. Carbohydr. Polym.*, 207, 362-70
- Li, S., Kong, L. et Ziegler, G. R. (2021). *Electrospinning of Octenylsuccinylated Starch-Pullulan Nanofibers from Aqueous Dispersions. Carbohydr. Polym.*, 258, 116933
- Lima, D. C., Villar, J., Castanha, N., Maniglia, B. C., Matta Junior, M. D. et Duarte Augusto, P. E. (2020). *Ozone modification of arracacha starch: Effect on structure and functional properties. Food Hydrocolloids*, 108, 106066



- Lin, Q., Qian, S., Li, C., Pan, H., Wu, Z. et Liu, G. (2012). *Synthesis, flocculation and adsorption performance of amphoteric starch*. *Carbohydr. Polym.*, 90, 275-83
- Liu, C., Liu, Y., Deng, H., Tang, S. et Cao, Y. C. (2019a). *High quantum yield and well-dispersed quantum dots luminescent composite through sodium carboxymethyl starch*. *Luminescence*, 34, 200-4
- Liu, G., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L. et Li, C. (2017). *Structure, functionality and applications of debranched starch: A review*. *Trends Food Sci. Technol.*, 63, 70-9
- Liu, J., Chen, J., Dong, N., Ming, J. et Zhao, G. (2012). *Determination of degree of substitution of carboxymethyl starch by Fourier transform mid-infrared spectroscopy coupled with partial least squares*. *Food Chem.*, 132, 2224-30
- Liu, K., Wang, Y., Li, H. et Duan, Y. (2015). *A facile one-pot synthesis of starch functionalized graphene as nano-carrier for pH sensitive and starch-mediated drug delivery*. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, 128, 86-93
- Liu, X., Ma, H., Yu, L., Chen, L., Tong, Z. et Chen, P. (2014). *Thermal-oxidative degradation of high-amylose corn starch*. *J. Therm. Anal. Calorim.*, 115, 659-65
- Liu, X., Wang, Y., Yu, L., Tong, Z., Chen, L., Liu, H. et Li, X. (2013). *Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions*. *Starch - Stärke*, 65, 48-60
- Liu, Y., Yang, L., Ma, C. et Zhang, Y. (2019b). *Thermal Behavior of Sweet Potato Starch by Non-Isothermal Thermogravimetric Analysis*. *Materials*, 12, 699
- Lolkema, J. et Cornelis, M. H. K. (1941). *Process of forming insoluble layers from carbohydrates*. Netherlands : Scholten Chemische Fab. US2541773A.
- Lomelí-Ramírez, M. G., Barrios-Guzmán, A. J., García-Enriquez, S., Rivera-Prado, J. d. J. et Manríquez-González, R. (2014). *Chemical and Mechanical Evaluation of Bio-composites Based on Thermoplastic Starch and Wood Particles Prepared by Thermal Compression*. 2014, 9, 15
- López, O. V. et García, M. A. (2012). *Starch films from a novel (*Pachyrhizus ahipa*) and conventional sources: Development and characterization*. *Mater. Sci. Eng. C*, 32, 1931-40
- López, O. V., García, M. A. et Zaritzky, N. E. (2008). *Film forming capacity of chemically modified corn starches*. *Carbohydr. Polym.*, 73, 573-81
- López, O. V., Lecot, C. J., Zaritzky, N. E. et García, M. A. (2011). *Biodegradable packages development from starch based heat sealable films*. *J. Food Eng.*, 105, 254-63
- Lourdin, D., Coignard, L., Bizot, H. et Colonna, P. (1997). *Influence of equilibrium relative humidity and plasticizer concentration on the water content and glass transition of starch materials*. *Polymer*, 38, 5401-6
- Lourdin, D., Valle, G. D. et Colonna, P. (1995). *Influence of amylose content on starch films and foams*. *Carbohydr. Polym.*, 27, 261-70

Luchese, C. L., Spada, J. C. et Tessaro, I. C. (2017). *Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. Ind. Crops Prod., 109*, 619-26

Mali, S., Grossmann, M. V. E., Garcia, M. A., Martino, M. N. et Zaritzky, N. E. (2002). *Microstructural characterization of yam starch films. Carbohydr. Polym., 50*, 379-86

Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N. et Zaritzky, N. E. (2006). *Effects of controlled storage on thermal, mechanical and barrier properties of plasticized films from different starch sources. J. Food Eng., 75*, 453-60

Mali, S., Grossmann, M. V. E., García, M. A., Martino, M. N. et Zaritzky, N. E. (2004). *Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films. Carbohydr. Polym., 56*, 129-35

Mali, S., Sakanaka, L. S., Yamashita, F. et Grossmann, M. V. E. (2005). *Water sorption and mechanical properties of cassava starch films and their relation to plasticizing effect. Carbohydr. Polym., 60*, 283-9

Man, J., Lin, L., Wang, Z., Wang, Y., Liu, Q. et Wei, C. (2014). *Different structures of heterogeneous starch granules from high-amylose rice. J. Agric. Food Chem., 62*, 11254-63

Maniglia, B. C., Tessaro, L., Ramos, A. P. et Tapia-Blácido, D. R. (2019). *Which plasticizer is suitable for films based on babassu starch isolated by different methods? Food Hydrocolloids, 89*, 143-52

Martens, B. M. J., Gerrits, W. J. J., Bruininx, E. M. A. M. et Schols, H. A. (2018). *Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an in vitro pig model. J. Anim. Sci. Biotechnol., 9*, 91

Marvola, M., Nykänen, P., Rautio, S., Isonen, N. et Autere, A. (1999). *Enteric polymers as binders and coating materials in multiple-unit site-specific drug delivery systems. Eur. J. Pharm. Sci., 7*, 259-67

Massicotte, L. P., Baille, W. E. et Mateescu, M. A. (2008). *Carboxylated high amylose starch as pharmaceutical excipients. Structural insights and formulation of pancreatic enzymes. Int. J. Pharm., 356*, 212-23

Mateescu, M. A., Ispas-Szabo P et Mulhbacher J. (2006). *Cross-linked Starch Derivatives for High Loaded Pharmaceutical Formulation. Dans Marchessault, R., Ravenelle, F. et Zhu, X. X. (Éd.), Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications (p. 121-37). Washington DC, États-Unis : ACS symposium series.*

Mateescu, M. A., Ispas-Szabo, P. et Assaad, E. (2015). *Controlled Drug Delivery: The Role of Self-Assembling Multi-Task Excipients. UK, Elsevier*

Mateescu, M. A., Lenaerts, V. et Dumoulin, Y. (1995). *Use of cross-linked amylose as a matrix for the slow release of biologically active compounds. United States : Labopharm Inc. US5456921.*

Matusiak, J. et Grządka, E. (2020). *Cationic starch as the effective flocculant of silica in the presence of different surfactants. Sep. Purif. Technol., 234*, 116132

McConnell, E. L., Tutas, J., Mohamed, M. A. M., Banning, D. et Basit, A. W. (2007). *Colonic drug delivery using amylose films: the role of aqueous ethylcellulose dispersions in controlling drug release*. *Cellulose*, *14*, 25-34

Medhekar, R., Nehmer, W., Tuohy, L. et Sprankle, S. (2013). *Coating compositions for consumable articles*. United States WO2014100539A1.

Mehr, R., Peighambardoust, S. J. et Peighambardoust, S. H. (2017). *Preparation and Characterization of Corn Starch/Clay Nanocomposite Films: Effect of Clay Content and Surface Modification*. *Starch - Stärke*, *70*, 1700251

Méité, N., Konan, L. K., Tognonvi, M. T., Doubi, B. I. H. G., Gomina, M. et Oyetola, S. (2021). *Properties of hydric and biodegradability of cassava starch-based bioplastics reinforced with thermally modified kaolin*. *Carbohydr. Polym.*, *254*, 117322

Meneguín, A. B., Beyssac, E., Garrait, G., Hsein, H. et Cury, B. S. F. (2018). *Retrograded starch/pectin coated gellan gum-microparticles for oral administration of insulin: A technological platform for protection against enzymatic degradation and improvement of intestinal permeability*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, *123*, 84-94

Menzel, C. (2020). *Improvement of starch films for food packaging through a three-principle approach: Antioxidants, cross-linking and reinforcement*. *Carbohydr. Polym.*, *250*, 116828

Menzel, C., González-Martínez, C., Vilaplana, F., Diretto, G. et Chiralt, A. (2020). *Incorporation of natural antioxidants from rice straw into renewable starch films*. *Int. J. Biol. Macromol.*, *146*, 976-86

Milojevic, S., Newton, J. M., Cummings, J. H., Gibson, G. R., Louise Botham, R., Ring, S. G., Stockham, M. et Allwood, M. C. (1996). *Amylose as a coating for drug delivery to the colon: Preparation and in vitro evaluation using 5-aminosalicylic acid pellets*. *J. Control. Release*, *38*, 75-84

Mohapatra, S., Siddiqui, A. A., Anwar, M., Bhardwaj, N., Akhter, S. et Ahmad, F. J. (2018). *Synthesis and characterization of novel carboxymethyl Assam Bora rice starch for the controlled release of cationic anticancer drug based on electrostatic interactions*. *AAPS PharmSciTech*, *19*, 134-47

Monteiro, M. K. S., Oliveira, V. R. L., Santos, F. K. G., Barros Neto, E. L., Leite, R. H. L., Aroucha, E. M. M., Silva, R. R. et Silva, K. N. O. (2018). *Incorporation of bentonite clay in cassava starch films for the reduction of water vapor permeability*. *Food Res. Int.*, *105*, 637-44

Morán, J., Cyras, V. et Vázquez, A. (2012). *Preparation and Characterization of Three Different Derivatized Potato Starches*. *J. Polym. Environ.*, *21*, 395-404

Morrison, W. R. et Laignelet, B. (1983). *An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches*. *J. Cereal Sci.*, *1*, 9-20

Mottiar, Y. et Altosaar, I. (2011). *Iodine sequestration by amylose to combat iodine deficiency disorders*. *Trends Food Sci. Technol.*, *22*, 335-40

- Moussa, I., Khiari, R., Moussa, A., Belgacem, M. N. et Mhenni, M. F. (2019). *Preparation and Characterization of Carboxymethyl Cellulose with a High Degree of Substitution from Agricultural Wastes. Fiber Polym., 20*, 933-43
- Moya-Ortega, M. D., Alvarez-Lorenzo, C., Concheiro, A. et Loftsson, T. (2012). *Cyclodextrin-based nanogels for pharmaceutical and biomedical applications. Int. J. Pharm., 428*, 152-63
- Muharam, S., Mukmilah Yuningsih, L. et R. Sumitra, M. (2017). Characterization of superabsorbent hydrogel based on epichlorohydrin crosslink and carboxymethyl functionalization of cassava starch. *AIP Conf Proc, 1862*, 030083
- Mulhbacher, J., Ispas-Szabo, P., Lenaerts, V. et Mateescu, M. A. (2001). *Cross-linked high amylose starch derivatives as matrices for controlled release of high drug loadings. J. Control. Release, 76*, 51-8
- Müller, C., Yamashita, F. et Laurindo, J. (2008a). *Evaluation of the effect of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. Carbohydr. Polym., 72*, 82-7
- Müller, C. M. O., Yamashita, F. et Laurindo, J. B. (2008b). *Evaluation of the effects of glycerol and sorbitol concentration and water activity on the water barrier properties of cassava starch films through a solubility approach. Carbohydr. Polym., 72*, 82-7
- Nair, A. B., Al-Dhubiab, B. E., Shah, J., Vimal, P., Attimarad, M. et Harsha, S. (2018). *Development and evaluation of palonosetron loaded mucoadhesive buccal films. J. Drug Deliv. Sci. Tech., 47*, 351-8
- Nandiyanto, A., Oktiani, R. et Ragadhita, R. (2019). *How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. Indones. J. Sci, 4*, 97-118
- Newton, J. M. et Leong, C. W. (1997). *Low temperature coatings*. United States : Alizyme Therapeutics Ltd. US6743445B2.
- Nita, L. E., Chiriac, A. P., Rusu, A. G., Ghilan, A., Dumitriu, R. P., Bercea, M. et Tudorachi, N. (2020). *Stimuli Responsive Scaffolds Based on Carboxymethyl Starch and Poly(2-Dimethylaminoethyl Methacrylate) for Anti-Inflammatory Drug Delivery. Macromol. Biosci., 20*, 1900412
- Noga, M., Edinger, D., Rödl, W., Wagner, E., Winter, G. et Besheer, A. (2012). *Controlled shielding and deshielding of gene delivery polyplexes using hydroxyethyl starch (HES) and alpha-amylase. J. Control. Release, 159*, 92-103
- Noori, F., Megoura, M., Labelle, M. A., Mateescu, M. A. et Azzouz, A. (2022). Synthesis of Metal-Loaded Carboxylated Biopolymers with Antibacterial Activity through Metal Subnanoparticle Incorporation. *Antibiotics (Basel), 11*, 439
- Nordin, N. A., Rahman, N. A., Talip, N. et Yacob, N. (2018). *Citric Acid Cross-Linking of Carboxymethyl Sago Starch Based Hydrogel for Controlled Release Application. Macromol. Symp., 382*, 1800086

Nourmohammadi, J., Ghaee, A. et Liavali, S. H. (2016). *Preparation and characterization of bioactive composite scaffolds from polycaprolactone nanofibers-chitosan-oxidized starch for bone regeneration. Carbohydr. Polym., 138, 172-9*

Nwokocha, L. M. et Ogunmola, G. B. (2014). *Colour of starch-iodine complex as index of retrogradability of starch pastes. Afr. J. Pure Appl. Chem., 8, 89-93*

O'Donnell, M. D. et McGeeney, K. F. (1983). *Suitability of control materials in the differential inhibition assay for human pancreatic and salivary amylase. Clin. Chem., 29, 510-2*

Olusola, A., Olademehin, P., Hussaini, Y., Nwanta, U., Adejoh, A. I. et Plavec, J. (2016). *Synthesis and Characterization of Carboxymethyl Plectranthus esculentus Starch. A Potential Disintegrant. J. Pharm. App. Chem., 2, 189-95*

Ouyang, Q., Wang, X., Xiao, Y., Luo, F., Lin, Q. et Ding, Y. (2021). *Structural changes of A-, B- and C-type starches of corn, potato and pea as influenced by sonication temperature and their relationships with digestibility. Food Chem., 358, 129858*

Palviainen, P., Heinamaki, J., Myllarinen, P., Lahtinen, R., Yliruusi, J. et Forssell, P. (2001). *Corn starches as film formers in aqueous-based film coating. Pharm. Dev. Technol., 6, 353-61*

Pant, B. R., Jeon, H.-J. et Song, H. H. (2011). *Radiation cross-linked carboxymethylated starch and iron removal capacity in aqueous solution. Macromol. Res., 19, 307*

Panwar, V., Sharma, A., Thomas, J., Chopra, V., Kaushik, S., Kumar, A. et Ghosh, D. (2019). *In-vitro and In-vivo evaluation of biocompatible and biodegradable calcium-modified carboxymethyl starch as a topical hemostat. Materialia, 7, 100373*

Parissaux, X., Bihan, G. L. et Croquet, S. (2014). *Film-forming compositions for the film-coating of solid forms. France : Roquette Frères. WO2014155015A1.*

Park, S., Kang, Y., Koh, H. et Kim, S. (2020). *Increasing incidence of inflammatory bowel disease in children and adolescents: significance of environmental factors. Clin. Exp. Pediatr., 63, 337-44*

Parveen, S. (2017). *Recent Advancement in Tablet Coating Technology. World J. Pharm. Pharm. Sci., 6, 2189-204*

Pashkuleva, I., Marques, A. P., Vaz, F. et Reis, R. L. (2010). *Surface modification of starch based biomaterials by oxygen plasma or UV-irradiation. J. Mater. Sci. Mater. Med., 21, 21-32*

Patel, H., Royall, P. G., Gaisford, S., Williams, G. R., Edwards, C. H., Warren, F. J., Flanagan, B. M., Ellis, P. R. et Butterworth, P. J. (2017). *Structural and enzyme kinetic studies of retrograded starch: Inhibition of  $\alpha$ -amylase and consequences for intestinal digestion of starch. Carbohydr. Polym., 164, 154-61*

Patil, A. V. et Mahajan, H. S. (2021). *Modified pea starch based ocular films of azelastine hydrochloride: Development and characterization. Carbohydr. Polym. Technol. App., 2, 100078*

Paul J. Sheskey, Bruno C. Hancock, Gary P. Moss et Goldfarb, D. J. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sixième éd., Pharmaceutical Press

Pearnchob, N., Dashevsky, A. et Bodmeier, R. (2004). *Improvement in the disintegration of shellac-coated soft gelatin capsules in simulated intestinal fluid*. *J. Control. Release*, 94, 313-21

Pelissari, F. M., Yamashita, F., Garcia, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. et Grossmann, M. V. E. (2012). *Constrained mixture design applied to the development of cassava starch–chitosan blown films*. *J. Food Eng.*, 108, 262-7

Peng, H., Zhong, S., Lin, Q., Yao, X., Liang, Z., Yang, M., Yin, G., Liu, Q. et He, H. (2016). *Removal of both cationic and anionic contaminants by amphoteric starch*. *Carbohydr. Polym.*, 138, 210-4

Pérez-Gallardo, A., Bello-Pérez, L. A., García-Almendárez, B., Montejano-Gaitán, G., Barbosa-Cánovas, G. et Regalado, C. (2012). *Effect of structural characteristics of modified waxy corn starches on rheological properties, film-forming solutions, and on water vapor permeability, solubility, and opacity of films*. *Starch - Stärke*, 64, 27-36

Pérez, E., Segovia, X., Tapia, M. et Schroeder, M. (2012). *Native and cross-linked modified Dioscorea trifida (cush-cush yam) starches as bio-matrices for edible films*. *J. Cell. Plast.*, 48, 545-56

Pérez, S. et Bertoft, E. (2010). *The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review*. *Starch - Stärke*, 62, 389-420

Pi-xin, W., Xiu-li, W., Xue, D.-h., Xu, K., Tan, Y., Du, X.-b. et Li, W.-b. (2009). *Preparation and characterization of cationic corn starch with a high degree of substitution in dioxane–THF–water media*. *Carbohydr. Res.*, 344, 851-5

Pimparade, M. B., Vo, A., Maurya, A. S., Bae, J., Morott, J. T., Feng, X., Kim, D. W., Kulkarni, V. I., Tiwari, R., Vanaja, K., Murthy, R., Shivakumar, H. N., Neupane, D., Mishra, S. R., Murthy, S. N. et Repka, M. A. (2017). *Development and evaluation of an oral fast disintegrating anti-allergic film using hot-melt extrusion technology*. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 119, 81-90

Podczec, G. F. et Freire Teixeira de Almeida Lopes, A. C. (2008). *Coating composition comprising starch*. United Kingdom : University of Sunderland. WO/2008/012573.

Pooresmaeil, M. et Namazi, H. (2021). *Developments on carboxymethyl starch-based smart systems as promising drug carriers: A review*. *Carbohydr. Polym.*, 258, 117654

Poorgholy, N., Massoumi, B. et Jaymand, M. (2017). *A novel starch-based stimuli-responsive nanosystem for theranostic applications*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 97, 654-61

Poursaid, A., Jensen, M. M., Huo, E. et Ghandehari, H. (2016). *Polymeric materials for embolic and chemoembolic applications*. *J. Control. Release*, 240, 414-33

Protzman, T. F., Wagoner, I. A., Zion, M. et Young, A. H. (1964). *Process of casting amylose films*. United States : A. E. Staley Manufacturing Company. US3344216A.

Pu, H., Chen, L., Li, X., Xie, F., Yu, L. et Li, L. (2011). *An Oral Colon-Targeting Controlled Release System Based on Resistant Starch Acetate: Synthetization, Characterization, and Preparation of Film-Coating Pellets*. *J. Agr. Food Chem.*, 59, 5738-45

Qiu, L., Hu, F. et Peng, Y. (2013). *Structural and mechanical characteristics of film using modified corn starch by the same two chemical processes used in different sequences*. *Carbohydr. Polym.*, 91, 590-6

Quadrado, R. F. N. et Fajardo, A. R. (2018). *Microparticles based on carboxymethyl starch/chitosan polyelectrolyte complex as vehicles for drug delivery systems*. *Arab. J. Chem.*, 13, 2183-94

Rajabnezhad, S., Ghafourian, T., Rajabi-Siahboomi, A., Missaghi, S., Naderi, M., Salvage, J. P. et Nokhodchi, A. (2020). *Investigation of water vapour sorption mechanism of starch-based pharmaceutical excipients*. *Carbohydr. Polym.*, 238, 116208

Ratnayake, W. S., Hoover, R. et Warkentin, T. (2002). *Pea Starch: Composition, Structure and Properties — A Review*. *Starch - Stärke*, 54, 217-34

Ravenelle, F. et Rahmouni, M. (2006). *Contramid© : High –Amylose Starch for Controlled Drug Delivery*. Dans Marchessault, R., Ravenelle, F. et Zhu, X. X. (Éd.), *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications* (p. 79-104). Washington, DC, USA : ACS symposium series.

Raxit, Y. M., Ghimire, M. et Rajabi-Siahboomi, A. R. (2020). *Fundamental Evaluation of Moisture Scavenging Property of Partially Pregelatinized Maize Starch using Thermoanalytical Techniques*. AAPS poster reprint 2020 : Colorcon, Inc. Harleysville, PA 19438, USA.

Regazzi, A., Dumont, P., Harthong, B., Imbault, D., Robert, P. et Putaux, J.-L. (2016). *Effectiveness of thermo-compression for manufacturing native starch bulk materials*. *J. Mat. Sci.*, 51, 5146–59

Remon, J. P., Verva, C. et Foreman, P. (2012). *Pharmaceutical pellets comprising modified starch and therapeutic applications therefor*. United States : Henkel IP and Holding GmbH. US20120207823A1.

Rindlav-Westling, Å., Stading, M. et Gatenholm, P. (2002). *Crystallinity and Morphology in Films of Starch, Amylose and Amylopectin Blends*. *Biomacromolecules*, 3, 84-91

Rioux, B., Ispas-Szabo, P., Aït-Kadi, A., Mateescu, M. A. et Juhász, J. (2002). *Structure–properties relationship in cross-linked high amylose starch cast films*. *Carbohydr. Polym.*, 50, 371-8

Rojas, J., Uribe, Y. et Zuluaga, A. (2012). *Powder and compaction characteristics of pregelatinized starches*. *Die Pharmazie*, 67, 513-7

Rompothi, O., Pradipasena, P., Tananuwong, K., Somwangthanaroj, A. et Janjarasskul, T. (2017). *Development of non-water soluble, ductile mung bean starch based edible film with oxygen barrier and heat sealability*. *Carbohydr. Polym.*, 157, 748-56

Rutenberg, M. W., Wadym, J. et Ross, L. J. (1957). *Water-dispersible, partially substituted derivatives of amylose*. United States : Ingredient Inc (Application filed by National Starch and Chemical Corp). US3038895A.

- Saboktakin, M. R., Tabatabaie, R. M., Maharramov, A. et Ramazanov, M. A. (2011). *Synthesis and in vitro evaluation of carboxymethyl starch–chitosan nanoparticles as drug delivery system to the colon*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 48, 381-5
- Saikia, C., Hussain, A., Ramteke, A., Sharma, H. K., Deb, P. et Maji, T. K. (2015). *Carboxymethyl starch-coated iron oxide magnetic nanoparticles: a potential drug delivery system for isoniazid*. *Iran. Polym. J.*, 24, 815-28
- Sakeer, K., Ispas-Szabo, P., Benyerbah, N. et Mateescu, M. A. (2018). *Ampholytic starch excipients for high loaded drug formulations: Mechanistic insights*. *Int. J. Pharm.*, 535, 201-16
- Sakeer, K., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2017). *Self-Stabilizing Ampholytic Starch Excipients for Sustained Release of Highly Soluble Drugs: the Case Study of Metformin*. *AAPS PharmSciTech*, 18, 2658-72
- Samotus, B., Tuz, J. et Doerre, E. (2014). *Evaluation of Blue Value in different plant materials as a tool for rapid starch determination*. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 62, 137-41
- Sangseethong, K., Ketsilp, S. et Sriroth, K. (2005). *The Role of Reaction Parameters on the Preparation and Properties of Carboxymethyl Cassava Starch*. *Starch - Stärke*, 57, 84-93
- Sarkar, A., Biswas, D. R., Datta, S. C., Dwivedi, B. S., Bhattacharyya, R., Kumar, R., Bandyopadhyay, K. K., Saha, M., Chawla, G., Saha, J. K. et Patra, A. K. (2021). *Preparation of novel biodegradable starch/poly(vinyl alcohol)/bentonite grafted polymeric films for fertilizer encapsulation*. *Carbohydr. Polym.*, 259, 12
- Sato, K. T., Richardson, A., Timm, D. E. et Sato, K. (1988). *One-Step Iodine Starch Method for Direct Visualization of Sweating*. *Am. J. Med. Sci.*, 295, 528-31
- Seenivasan, P., Chowdary, K. P. R., Uma Maheswara Reddy, C. et Murthy, J. S. N. (2013). *Design and evaluation of glipizide CR tablets employing starch acetate as rate controlling matrix former*. *J. Pharm. Res.*, 6, 653-5
- Sessini, V., Arrieta, M. P., Fernández-Torres, A. et Peponi, L. (2018). *Humidity-activated shape memory effect on plasticized starch-based biomaterials*. *Carbohydr. Polym.*, 179, 93-9
- Shaikh, M., Haider, S., Ali, T. M. et Hasnain, A. (2019). *Physical, thermal, mechanical and barrier properties of pearl millet starch films as affected by levels of acetylation and hydroxypropylation*. *Int. J. Biol. Macromol.*, 124, 209-19
- Shi, Y.-C., Capitani, T., Trzasko, P. et Jeffcoat, R. (1998). *Molecular Structure of a Low-Amylopectin Starch and Other High-Amylose Maize Starches*. *J. Cereal Sci.*, 27, 289-99
- Shoji, N., Sasano, T., Inukai, K., Satoh-Kuriwada, S., Iikubo, M., Furuuchi, T. et Sakamoto, M. (2003). *A simple, yet accurate method for detecting and quantifying secretions from human minor salivary glands using the iodine-starch reaction*. *Arch. Oral Biol.*, 48, 761-5
- Shukri, R. et Shi, Y.-C. (2017). *Structure and pasting properties of alkaline-treated phosphorylated cross-linked waxy maize starches*. *Food Chem.*, 214, 90-5



Siepmann, J., Karrout, Y., Guerin-Deremaux, L., KLAEYLE, J. et Wils, D. (2010). *Indigestible polymer: starch acetate -based film coatings for colon targeting*. France : Roquette Freres. EP2386297A1.

Signorino, C. A. (1991). *Wet powder film-forming compositions*. United States : Warner-Jenkinson Co Inc. US5480479A.

Singh, J., Colussi, R., McCarthy, O. J. et Kaur, L. (2016). Chapter 8 - Potato Starch and Its Modification. Dans Singh, J. et Kaur, L. (Éd.), *Advances in Potato Chemistry and Technology* (2 éd., p. 195-247). San Diego : Academic Press.

Situ, W., Chen, L., Wang, X. et Li, X. (2014). *Resistant Starch Film-Coated Microparticles for an Oral Colon-Specific Polypeptide Delivery System and Its Release Behaviors*. *J. Agric. Food Chem.*, 62, 3599-609

Small, J. et Jeffries, S. (1971). *Tablet coating process and composition*. United States : Dow Chemical Co. US3751277A.

Soliman, A. A. A., El-Shinnawy, N. A. et Mobarak, F. (1997). *Thermal behaviour of starch and oxidized starch*. *Thermochim. Acta*, 296, 149-53

Sommer, C. M., Do, T. D., Schlett, C. L., Flechsig, P., Gockner, T. L., Kuthning, A., Vollherbst, D. F., Pereira, P. L., Kauczor, H. U. et Macher-Goppinger, S. (2018a). *In vivo characterization of a new type of biodegradable starch microsphere for transarterial embolization*. *J. Biomater. Appl.*, 32, 932-44

Sommer, C. M., Do, T. D., Schlett, C. L., Flechsig, P., Gockner, T. L., Kuthning, A., Vollherbst, D. F., Pereira, P. L., Kauczor, H. U. et Macher-Göppinger, S. (2018b). *In vivo characterization of a new type of biodegradable starch microsphere for transarterial embolization*. *J. Biomater. Appl.*, 32, 932-44

Song, H., Wu, D., Zhang, R.-Q., Qiao, L.-Y., Zhang, S.-H., Lin, S. et Ye, J. (2009). *Synthesis and application of amphoteric starch graft polymer*. *Carbohydr. Polym.*, 78, 253-7

Souza, A. C., Benze, R., Ferrão, E. S., Ditchfield, C., Coelho, A. C. V. et Tadini, C. C. (2012). *Cassava starch biodegradable films: Influence of glycerol and clay nanoparticles content on tensile and barrier properties and glass transition temperature*. *LWT-Food Sci. Technol.*, 46, 110-7

Souza, A. C., Goto, G. E. O., Mainardi, J. A., Coelho, A. C. V. et Tadini, C. C. (2013). *Cassava starch composite films incorporated with cinnamon essential oil: Antimicrobial activity, microstructure, mechanical and barrier properties*. *LWT-Food Sci. Technol.*, 54, 346-52

Srivastava, J., Kushwaha, A., Srivastava, M., Srivastava, A. et Singh, M. (2019). *Glycoprotein imprinted RGO-starch nanocomposite modified EQCM sensor for sensitive and specific detection of transferrin*. *J. Electroanal. Chem.*, 835, 169-77

Stawski, D. (2008). *New determination method of amylose content in potato starch*. *Food Chem.*, 110, 777-81

Stojanović, Ž., Jeremić, K., Jovanović, S. et Lechner, M. D. (2005). *A Comparison of Some Methods for the Determination of the Degree of Substitution of Carboxymethyl Starch*. *Starch - Stärke*, 57, 79-83

Sun, Y., Shi, C., Yang, J., Zhong, S., Li, Z., Xu, L., Zhao, S., Gao, Y. et Cui, X. (2018). *Fabrication of folic acid decorated reductive-responsive starch-based microcapsules for targeted drug delivery via sonochemical method. Carbohydr. Polym., 200*, 508-15

Susano, M. A., Leonor, I. B., Reis, R. L. et Azevedo, H. S. (2014). Elastic biodegradable starch/ethylene - co - vinyl alcohol fibre - mesh scaffolds for tissue engineering applications. *J. Appl. Polym. Sci., 131*, 40504

Suwanprateeb, J., Kiertkittikhon, S., Kintarak, J., Suvannapruk, W., Thammarakcharoen, F. et Rukskul, P. (2014). *In vivo assessment of new resorbable PEG-PPG-PEG copolymer/starch bone wax in bone healing and tissue reaction of bone defect in rabbit model. J. Mater. Sci. Mater. Med., 25*, 2131-9

Taggart, P. et Mitchell, J. R. (2009). Starch. Dans Phillips, G. O. et Williams, P. A. (Éd.), *Handbook of Hydrocolloids* (2 éd., p. 108-41) : Woodhead Publishing.

Talja, R. A., Helén, H., Roos, Y. H. et Jouppila, K. (2007). *Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. Carbohydr. Polym., 67*, 288-95

Tapia, M., Pérez, E., Rodríguez, P., Guzman Alvarez, R., Ducamp, M.-N., Tran, T. et Rolland-Sabaté, A. (2012). *Some properties of starch and starch edible films from under-utilized roots and tubers from the Venezuelan Amazons. J. Cell. Plast., 48*, 526-44

Tarchoun, A. F., Trache, D., Klapötke, T. M. et Krumm, B. (2020). *New insensitive nitrogen-rich energetic polymers based on amino-functionalized cellulose and microcrystalline cellulose: Synthesis and characterization. Fuel, 277*, 118258

Tarvainen, M., Sutinen, R., Peltonen, S., Tiihonen, P. et Paronen, P. (2002). *Starch acetate--a novel film-forming polymer for pharmaceutical coatings. J. Pharm. Sci., 91*, 282-9

Tavares, K. M., Campos, A. d., Luchesi, B. R., Resende, A. A., Oliveira, J. E. d. et Marconcini, J. M. (2020). Effect of carboxymethyl cellulose concentration on mechanical and water vapor barrier properties of corn starch films. *Carbohydr. Polym., 246*, 116521

Tesch, S., Gerhards, C. et Schubert, H. (2002). *Stabilization of emulsions by OSA starch. J. Food Eng., 54*, 167-74

Tester, R. F. et Debon, S. J. J. (2000). *Annealing of starch — a review. Int. J. Biol. Macromol., 27*, 1-12

Tester, R. F., Karkalas, J. et Qi, X. (2004). *Starch—composition, fine structure and architecture. J Cereal Sci, 39*, 151-65

Tongdeesoontorn, W., Mauer, L., Wongruong, S. et Rachtanapun, P. (2009). *Water vapour permeability and sorption isotherm of cassava starch based films blended with gelatin and carboxymethyl cellulose. Asian J. Food Agro-Ind., 2*, 501-14

Tüting, W., Albrecht, G., Volkert, B. et Mischnick, P. (2004). *Structure Analysis of Carboxymethyl Starch by Capillary Electrophoresis and Enzymic Degradation. Starch - Stärke, 56*, 315-21

United States Pharmacopeia. (2021). Test solutions. Dans United States Pharmacopeia Convention Committee of Revision (Éd.), *United States Pharmacopeia - National Formulary (43rd ed.)*. Rockville, MD, U.S.A. : United States Pharmacopeial Convention.

van Soest, J. J. G., Tournois, H., de Wit, D. et Vliegenthart, J. F. G. (1995). *Short-range structure in (partially) crystalline potato starch determined with attenuated total reflectance Fourier-transform IR spectroscopy*. *Carbohydr. Res.*, 279, 201-14

Varum, F., Freire, A. C., Fadda, H. M., Bravo, R. et Basit, A. W. (2020). *A dual pH and microbiota-triggered coating (Phloral™) for fail-safe colonic drug release*. *Int J Pharm*, 583, 119379

Vasilyev, G., Vilensky, R. et Zussman, E. (2019). *The ternary system amylose-amylopectin-formic acid as precursor for electrospun fibers with tunable mechanical properties*. *Carbohydr. Polym.*, 214, 186-94

Veiga-Santos, P., Suzuki, C. K., Nery, K. F., Cereda, M. P. et Scamparini, A. R. P. (2008). *Evaluation of optical microscopy efficacy in evaluating cassava starch biofilms microstructure*. *LWT-Food Sci. Technol.*, 41, 1506-13

Verger, E., Drion, P., Meffre, G., Bernard, C., Duwez, L., Lepareur, N., Couturier, O., Hindré, F., Hustinx, R. et Lacoeyille, F. (2016). *68Ga and 188Re Starch-Based Microparticles as Theranostic Tool for the Hepatocellular Carcinoma: Radiolabeling and Preliminary In Vivo Rat Studies*. *PLOS ONE*, 11, e0164626

Vishakha, V., Abdel-Mohsen, A. et Jancar, J. (2020). *Green synthesis and the stabilization of selenium nanoparticles using carboxymethyl starch*. 12th International Conference on Nanomaterials - Research & Application (p. 433-9). Brno, Czech Republic, EU

Wadke, P., Chhabra, R., Jain, R. et Dandekar, P. (2017). *Silver-embedded starch-based nanofibrous mats for soft tissue engineering*. *Surf. Interfaces*, 8, 137-46

Waghmare, V. S., Wadke, P. R., Dyawanapelly, S., Deshpande, A., Jain, R. et Dandekar, P. (2018). *Starch based nanofibrous scaffolds for wound healing applications*. *Bioact. Mater.*, 3, 255-66

Waigh, T. A., Gidley, M. J., Komanshek, B. U. et Donald, A. M. (2000). *The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach*. *Carbohydr. Res.*, 328, 165-76

Wang, J., Gardner, D. J., Stark, N. M., Bousfield, D. W., Tajvidi, M. et Cai, Z. (2018). *Moisture and Oxygen Barrier Properties of Cellulose Nanomaterial-Based Films*. *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 6, 49-70

Wang, J., Sun, H., Li, J., Dong, D., Zhang, Y. et Yao, F. (2015). *Ionic starch-based hydrogels for the prevention of nonspecific protein adsorption*. *Carbohydr. Polym.*, 117, 384-91

Wang, L.-F., Pan, S.-Y., Hu, H., Miao, W.-H. et Xu, X.-Y. (2010). *Synthesis and properties of carboxymethyl kudzu root starch*. *Carbohydr. Polym.*, 80, 174-9

Wang, X., Liu, Z. et Huang, L. (2019). *pH and thermo dual-responsive starch-g-P(DEAEMA-co-PEGMA): Synthesis via SET-LRP, self-assembly and drug release behaviors*. *React. Funct. Polym.*, 141, 165-71

- Wang, Y. J., Assaad, E., Ispas-Szabo, P., Mateescu, M. A. et Zhu, X. X. (2011). *NMR imaging of chitosan and carboxymethyl starch tablets: swelling and hydration of the polyelectrolyte complex*. *Int. J. Pharm.*, *419*, 215-21
- Wang, Z., Pakoulev, A., Pang, Y. et Dlott, D. D. (2004). *Vibrational Substructure in the OH Stretching Transition of Water and HOD*. *J. Phys. Chem. A*, *108*, 9054-63
- Wen, N., Lü, S., Gao, C., Xu, X., Bai, X., Wu, C., Ning, P. et Liu, M. (2018). *Glucose-responsive zwitterionic dialdehyde starch-based micelles with potential anti-phagocytic behavior for insulin delivery*. *Chem. Eng. J.*, *335*, 52-62
- Wilding, I. R., Coupe, A. J. et Davis, S. S. (2001). *The role of  $\gamma$ -scintigraphy in oral drug delivery*. *Adv. Drug Del. Rev.*, *46*, 103-24
- Wilpiszewska, K., Antosik, A. K. et Spychaj, T. (2015). *Novel hydrophilic carboxymethyl starch/montmorillonite nanocomposite films*. *Carbohydr. Polym.*, *128*, 82-9
- Wilson, P. J. et Basit, A. W. (2005). *Exploiting gastrointestinal bacteria to target drugs to the colon: An in vitro study using amylose coated tablets*. *Int. J. Pharm.*, *300*, 89-94
- Wisniak, J. (2009). *Alexander William Williamson*. *Educación Química*, *20*, 360-8
- Woggum, T., Sirivongpaisal, P. et Wittaya, T. (2014). *Properties and characteristics of dual-modified rice starch based biodegradable films*. *Int. J. Biol. Macromol.*, *67*, 490-502
- Wolff, I. A., Davis, H. A., Cluskey, J. E. et Gundrum, L. J. (1950). *Process for the production of amylose films*. United States : Secretary of Agriculture. US2608723A.
- Wood, J. R. (1906). *Tablet manufacture; its history, pharmacy and practice*. Philadelphia, Lippincott
- Wu, C., Wang, Z., Zhi, Z., Jiang, T., Zhang, J. et Wang, S. (2011). *Development of biodegradable porous starch foam for improving oral delivery of poorly water soluble drugs*. *Int. J. Pharm.*, *403*, 162-9
- Wurzburg, B. O. (2006). Modified starches. Dans Stephen, M. A., Phillips, O. G. et Williams, A. P. (Éd.), *Food Polysaccharides and Their Applications* (2 éd., p. 87-118). New-York : CRC.
- Wurzburg, O. B. et William, H. (1963). *Water dispersible high amylose starch*. United States : Ingredion Inc (National Starch). US3222220A.
- Xu, M., Saleh, A. S. M., Gong, B., Li, B., Jing, L., Gou, M., Jiang, H. et Li, W. (2018). *The effect of repeated versus continuous annealing on structural, physicochemical, and digestive properties of potato starch*. *Food Res. Int.*, *111*, 324-33
- Xu, S.-M., Feng, S., Peng, G., Wang, J.-D. et Yushan, A. (2005a). *Removal of Pb (II) by crosslinked amphoteric starch containing the carboxymethyl group*. *Carbohydr. Polym.*, *60*, 301-5
- Xu, S.-M., Feng, S., Yue, F. et Wang, J.-D. (2004). *Adsorption of Cu(II) ions from an aqueous solution by crosslinked amphoteric starch*. *J. Appl. Polym. Sci.*, *92*, 728-32

Xu, S.-M., Zhang, S.-F., Lu, R.-W., Yang, J.-Z. et Cui, C.-X. (2003). *Study on adsorption behavior between Cr(VI) and crosslinked amphoteric starch*. *J. Appl. Polym. Sci.*, *89*, 263-7

Xu, S., Wang, J., Wu, R., Wang, J. et Li, H. (2006). *Adsorption behaviors of acid and basic dyes on crosslinked amphoteric starch*. *Chem. Eng. J.*, *117*, 161-7

Xu, Y. X., Kim, K. M., Hanna, M. A. et Nag, D. (2005b). *Chitosan–starch composite film: preparation and characterization*. *Ind. Crops Prod.*, *21*, 185-92

Yang, H. S., Ma, H. et SESTRICK, M. (2016a). *Enteric film coating compositions, method of coating, and coated forms*. United States : FMC Corporation. WO2016106315A1.

Yang, J., Xie, F., Wen, W., Chen, L., Shang, X. et Liu, P. (2016b). *Understanding the structural features of high-amylose maize starch through hydrothermal treatment*. *Int. J. Biol. Macromol.*, *84*, 268-74

Yang, Z., Wu, H., Yuan, B., Huang, M., Yang, H., Li, A., Bai, J. et Cheng, R. (2014a). *Synthesis of amphoteric starch-based grafting flocculants for flocculation of both positively and negatively charged colloidal contaminants from water*. *Chem. Eng. J.*, *244*, 209-17

Yang, Z., Yuan, B., Li, H., Yang, Y., Yang, H., Li, A. et Cheng, R. (2014b). *Amphoteric starch-based flocculants can flocculate different contaminants with even opposite surface charges from water through molecular structure control*. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects*, *455*, 28-35

Ye, L., Zhang, Y., Yang, B., Zhou, X., Li, J., Qin, Z., Dong, D., Cui, Y. et Yao, F. (2016). *Zwitterionic-Modified Starch-Based Stealth Micelles for Prolonging Circulation Time and Reducing Macrophage Response*. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, *8*, 4385-98

Ye, Q. et Yan, S. (2010). *Synthesis of High Purity Mono-Alkyl Phosphate Using Cyclic Polyphosphoric Acid*. *J. Surfactants Deterg.*, *13*, 349-52

Yihui, L., Hang, H., Qing, Z., Jiangling, W., Ying, W., Zifu, L. et Xiangliang, Y. (2018). *Novel hydroxyethyl starch-paclitaxel conjugates based nanoparticles for enhanced antitumor effect*. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, *14*, 1798

Yoon, S.-D. (2014). *Cross-Linked Potato Starch-Based Blend Films Using Ascorbic Acid as a Plasticizer*. *J. Agric. Food Chem.*, *62*, 1755-64

Young, A. H. (1963a). *Amylosic material plasticized with quaternary ammonium salt*. United States : Tate and Lyle Ingredients Americas LLC. US3314810A.

Young, A. H. (1963b). *Polyvinyl alcohol plasticized amylose compositions*. United States : Tate and Lyle Ingredients Americas LLC. US3312641A.

Yu, J., Wang, L., Zhao, Y. et Zhou, C. (2021). *Preparation, characterization, and antibacterial property of carboxymethyl cellulose derivatives bearing tetrabutylammonium salt*. *Int. J. Biol. Macromol.*, *176*, 72-7

Zasytkin, D. et Porzio, M. (2004). *Glass encapsulation of flavours with chemically modified starch blends. J. Microencapsul.*, 21, 385-97

Zhang, B., Tao, H., Wei, B., Jin, Z., Xu, X. et Tian, Y. (2014). *Characterization of Different Substituted Carboxymethyl Starch Microgels and Their Interactions with Lysozyme. PLOS ONE*, 9, e114634

Zhang, H., Hou, H., Liu, P., Wang, W. et Dong, H. (2019). *Effects of acid hydrolysis on the physicochemical properties of pea starch and its film forming capacity. Food Hydrocolloids*, 87, 173-9

Zhang, L., Aloia, M., Pielecha-Safira, B., Lin, H., Rajai, P. M., Kunnath, K. et Davé, R. N. (2018). *Impact of Superdisintegrants and Film Thickness on Disintegration Time of Strip Films Loaded With Poorly Water-Soluble Drug Microparticles. J. Pharm. Sci.*, 107, 2107-18

Zhang, X., Golding, J. et Burgar, I. (2002). *Thermal decomposition chemistry of starch studied by <sup>13</sup>C high-resolution solid-state NMR spectroscopy. Polymer*, 43, 5791-6

Zhang, Y., Chi, C., Huang, X., Zou, Q., Li, X. et Chen, L. (2017). *Starch-based nanocapsules fabricated through layer-by-layer assembly for oral delivery of protein to lower gastrointestinal tract. Carbohydr. Polym.*, 171, 242-51

Zhang, Y. et Han, J. H. (2006). *Mechanical and thermal characteristics of pea starch films plasticized with monosaccharides and polyols. J. Food Sci.*, 71, E109-18

Zhu, J., Sun, Y., Sun, W., Meng, Z., Shi, Q., Zhu, X., Gan, H., Gu, R., Wu, Z. et Dou, G. (2019a). *Calcium ion-exchange cross-linked porous starch microparticles with improved hemostatic properties. Int. J. Biol. Macromol.*, 134, 435-44

Zhu, J., Zhang, S., Zhang, B., Qiao, D., Pu, H., Liu, S. et Li, L. (2017). *Structural features and thermal property of propionylated starches with different amylose/amylopectin ratio. Int. J. Biol. Macromol.*, 97, 123-30

Zhu, J., Zhong, L., Chen, W., Song, Y., Qian, Z., Cao, X., Huang, Q., Zhang, B., Chen, H. et Chen, W. (2019b). *Preparation and characterization of pectin/chitosan beads containing porous starch embedded with doxorubicin hydrochloride: A novel and simple colon targeted drug delivery system. Food Hydrocolloids*, 95, 562-70

Zhu, Z., Xu, D., Guo, J. et Xia, D. (2012). *Comparative study on sizing properties of amphoteric starch and phosphorylated starch for warp sizing. Fiber Polym.*, 13, 177-84

Ziemann, C., Roller, J., Malter, M. M., Keller, K., Kollmar, O., Glanemann, M., Menger, M. D. et Sperling, J. (2019). *Intra-arterial EmboCept S(R) and DC Bead(R) effectively inhibit tumor growth of colorectal rat liver metastases. BMC Cancer*, 19, 938

Zullo, R. et Iannace, S. (2009). *The effects of different starch sources and plasticizers on film blowing of thermoplastic starch: Correlation among process, elongational properties and macromolecular structure. Carbohydr. Polym.*, 77, 376-83