

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

NOUVEAUX DÉRIVÉS AMPHOLYTIQUES ET COMPLEXES  
POLYÉLECTROLYTIQUES À BASE D'AMIDON COMME MATRICES POUR  
LA LIBÉRATION CONTROLÉE DES MÉDICAMENTS

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN BIOCHIMIE

PAR  
NASSIM BENYERBAH

MAI 2019

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire 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.10-2015). 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

J'aimerais tout d'abord remercier mon directeur de maîtrise le Professeur Mircea Alexandru Mateescu pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant au sein de son groupe, ainsi que pour ses conseils précieux, son excellent encadrement, son aide, son dévouement et sa patience.

Je tiens à remercier très chaleureusement mon superviseur Dr Pompillia Ispas-Szabo pour les efforts fournis tout au long de ma maîtrise. En plus de ses grandes compétences scientifiques, je voudrais lui exprimer ma profonde gratitude pour sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard.

Je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à Sakeer Khaleel d'avoir facilité mon intégration dans le monde de la recherche. Aussi, pour ses conseils et pour l'aide qu'il m'a apporté dans la réalisation de ce travail.

Dans le cadre des collaborations, j'ai particulièrement apprécié de travailler avec le Professeur Daniel Chapdelaine, qui a participé à l'avancement du projet. Je voudrais l'en remercier.

Je voudrais aussi remercier toute l'équipe de recherche de notre laboratoire, Mireille, Mariela, Mirna, Armelle, Elena, Ladan, Lindsay ainsi que Dr. Canh, Victorien, Maziar, Giuliano pour leur support, et un grand merci à Marc-André pour son aide précieuse.

Je ne saurais remercier assez mes très chers parents dont j'en suis profondément redevable. Depuis toujours, ils ont su me donner toutes les chances pour réussir, je les remercie pour leurs conseils qui m'ont guidé et qui ont illuminé mon chemin, pour leur support qui m'a donné envie de me surpasser jour après jour. Je tiens à vous exprimer, maman et papa, mes plus profonds remerciements et à vous témoigner ma plus affectueuse gratitude.

Je voudrais remercier profondément ma fiancée Thiziri, qui a participé à la révision de ce mémoire, pour son soutien inconditionnel, pour sa patience, ses encouragements, et sa présence, particulièrement dans les moments difficiles. Je tiens aussi à remercier chaleureusement mes sœurs : Chourouk, Manel, Nabila et Hanaa, mes beaux-frères : Hamdane et Ayoub, mes nièces, ainsi que toute ma famille et ma belle-famille pour leur soutien constant et inestimable, et pour leurs encouragements tout au long de mon projet.

## DEDICACE

*À mes chers parents,  
À mes sœurs, ma fiancée, mes beaux-frères et mes nièces,  
À ma famille et ma belle-famille,  
À la mémoire de ma grand-mère « M'ani »,  
- Que dieu t'accueille en son vaste paradis-*

## TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CHAPITRE I Les systèmes à libération contrôlée des principes actifs sous formes solides pour administration orale.....	1
1.1 Généralités et définitions .....	1
1.2 Les systèmes à libération contrôlée des médicaments administrés par voie orale.....	3
1.2.1 Système à dissolution contrôlée .....	4
1.2.2 Système à diffusion contrôlée .....	5
1.2.3 Système de libération contrôlée par diffusion et dissolution .....	8
1.2.4 Systèmes de pompes osmotiques .....	8
1.3 Défis, avantages et inconvénients des systèmes à libération contrôlée par voie orale .....	10
1.4 Les polymères dans les systèmes à libération contrôlée par voie orale.....	12

1.4.1	Les polymères utilisés pour l'enrobage.....	12
1.4.2	Polymères utilisés comme matrice : Exemple du HPMC .....	13
CHAPITRE II Amidon et dérivés dans la formulation pharmaceutique .....		15
2.1	Amidon : Origine, structures, propriétés et caractérisation .....	15
2.2	Modification de l'amidon .....	22
2.2.1	Gélatinisation .....	22
2.2.2	Gélification.....	23
2.2.3	Réticulation .....	23
2.2.4	Fonctionnalisation.....	26
2.3	Carboxyméthylamidon : synthèse, caractérisation et applications .....	27
2.3.1	Synthèse et caractérisation du CMA .....	28
2.3.2	Applications pharmaceutiques du CMA .....	29
2.3.3	Les nouvelles modifications du CMA .....	31
2.4	Amidon ampholytique .....	34
CHAPITRE III Présentation du projet .....		35
3.1	Concepts du projet .....	35
3.2	Objectifs du projet .....	36
3.3	Hypothèses.....	36
3.4	Méthodologie.....	37
CHAPITRE IV composés d'amidon polyélectrolytique utilisés comme matrices pour la libération contrôlée des médicaments .....		41
4.1	Introduction.....	44
4.2	Materials .....	46

4.3 Methods .....	47
4.4 Results .....	54
4.5 Discussions .....	65
4.6 Conclusion .....	69
CHAPITRE V DISCUSSION ET CONCLUSION .....	71
5.1 Discussion.....	71
5.2 Conclusion .....	75
5.3 Perspectives .....	76
ANNEXE A Presentations orales durant le projet de maîtrise .....	77
ANNEXE B Presentations par affiche durant le projet de maitrise .....	78
ANNEXE C Participation à la publication d'un article scientifique comme co-auteur durant le projet de maitrise.....	80
BIBLIOGRAPHIE .....	95

## LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Diagramme récapitulatif des différents systèmes à libération contrôlée Des médicaments .....	3
1.2 Système de classification des biopharmaceutiques (SCB) .....	4
1.3 Schéma du système à dissolution contrôlée .....	5
1.4 Systèmes à diffusion contrôlée, type réservoir .....	6
1.5 Système de libération contrôlée par diffusion et dissolution .....	8
1.6 Diagramme récapitulatif des différents systèmes de type pompesosmotiques..	9
1.7 Structure chimique de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) .....	13
2.1 Représentation schématique de la structure linéaire d'amylose et la structure ramifiée d'amylopectine.....	16
2.2 L'organisation en lamelles et l'alternance des zones cristallines et amorphes dans un grain d'amidon .....	18
2.3 Diagramme de diffraction des rayons X sur les types V, B et A d'amidon.....	20
2.4 Images par microscope électronique à balayage (MEB) et grains d'amidon de différentes sources végétales.....	21
2.5 Exemples d'agents de réticulation d'amidon .....	27
2.6 Structure chimique du carboxymethylamidon (CMA).....	27
2.7 Images RMN de comprimés placebo CMA, chitosane-400, chitosane-700, 50% CMS :50% chitosane et PEC à différents moments.....	32
2.8 Schéma hypothétique du complexe CMS/Lecithine .....	33

3.1	Les étapes de synthèse d'un dérivé d'amidon : Exemple de TMACMA.....	37
3.2	Présentation schématique des différentes étapes du projet .....	39
4.1	FTIR spectra of native starch (black), TMAS (pink), CMS (green) and TMACMS (red) .....	55
4.2	X-ray diffraction patterns of native starch (Hylon VII), and of CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) starch products .....	56
4.3	Thermogravimetric patterns of Hylon VII , CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) .....	57
4.4	Scanning electron microscopy images of native starch, CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) .....	58
4.5	Photographs of placebo tablets of CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) .....	60
4.6	(A) Erosion, diameter, and thickness changes of placebo tablets. (B) fluids uptake of placebo tablets.....	61
4.7	Release profiles of 60% (A) and of 80% (B) loaded tablets with: acetaminophen (I), mesalamine (II), naproxen (III), atenolol (IV) .....	64

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
2.1 Teneur en amylose/amylopectine selon la source d'amidon.....	17
4.1 Micromeritic properties of starch derivatives.....	59

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AINS	Anti-Inflammatoire Non-Stéroïdiens
AIS	Anti-Inflammatoire Stéroïdiens
API	Active pharmaceutical ingredient
BCS	Système de classification biopharmaceutique
CPE	Complexe polyélectrolytique
CI	Index de Carr
CLHAS	Cross-linked high amylose starch
CMA	Carboxymethylamidon
DM	Mélange Direct
DS	Degré de substitution
FDA	Food and Drug Administration
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
GTMAC	Glycidyltrimethylammonium chloride
HAS	High Amylose Starch
HPMC	Hydroxypropylmethylcellulose
HF	Facteur de Hausner
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PA	Principe Actif
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
SD	Spray Drying
SEM	Microscopie électronique à balayage
SGF	Fluide Gastro-Intestinal Simulé
SIF	Fluide Intestinal Simulé
SMCA	Sodium monochloroacetate
STMP	Sodium trimethaphosphate
TGA	Analyse thermogravimétrique
TMAA	Trimethylaminoethylamidon
TMACMA	Trimethylaminoethylecarboxymethylamidon
TMD	Temperature maximale de décomposition
UHT	Ultra Haute Température
USP	Pharmacopée Americaine
XRD	Diffraction des rayons-X

## RÉSUMÉ

Le potentiel des composés polyampholytiques et polyélectrolytiques d'amidon en tant qu'excipients pour la libération contrôlée des principes actifs (PA) est étudié avec des traceurs différent en terme de solubilité et de perméabilité. L'amidon ampholytique triméthylamine carboxyméthyle (TMACMA) portant simultanément des groupes cationiques triméthylaminehydroxypropyle (TMA) et des groupes carboxyméthyle anioniques (CM) a été obtenu en une étape par synthèse en milieu aqueux. En outre, les poudres de triméthylamine amidon (TMAA) et de carboxyméthyleamidon (CMA) ont été synthétisées séparément puis homogénéisées à des ratios égaux en phase liquide et séchées par nébulisation (Spray drying) pour obtenir des complexes polyélectrolytiques TMAA-CMA (SD). De même, des quantités égales de poudres de TMAA et de CMA ont été mélangées à sec (Dry mixing) pour obtenir le TMAA:CMA (DM). Des comprimés monolithiques ont été obtenus par compression directe des mélanges excipient/PA contenant 60% ou 80% de PA. Les tests de dissolution *in vitro* ont montré que les produits ampholytique (TMACMA) et co-procéssé TMAA-CMA (SD) en présence des traceurs sélectionnés (un de chaque classe du Système de Classification Biopharmaceutique SCB) étaient en mesure de contrôler la libération des PAs même à des teneurs très élevées (80 %). Il était intéressant de noter que quelle que soit la procédure de préparation, les dérivés des matériaux ampholytiques et polyélectrolytiques d'amidon manifestent des comportements similaires et génèrent une stabilisation des comprimés par des interactions électrostatiques. Il a été conclu que la présence de charges opposées situées à des distances suffisantes pouvait avoir une incidence sur l'organisation des chaînes polymériques et implicitement sur le contrôle de la libération des principes actifs.

Mots-clés: amidon polyampholytique, amidon polyélectrolytique, stabilisation électrostatique, teneur élevée, systèmes de libération contrôlée, séchage par nébulisation.

## ABSTRACT

The potential of the polyampholytic and polyelectrolytic starch compounds as excipients for drug controlled release was investigated with various tracers differing in terms of solubility and permeability. Ampholytic trimethylaminecarboxymethylstarch (TMACMS) simultaneously carrying a trimethylaminehydroxypropyl (TMA) cationic groups and carboxymethyl (CM) anionic groups was obtained in one step synthesis in aqueous media. In addition, trimethylaminestarch (TMAS) and carboxymethylstarch (CMS) powders were synthesized separately and then homogenized at equal ratios for co-processing in liquid phase by spray drying (SD) obtaining polyelectrolytic complexes TMAS-CMS (SD). Similarly, equal amounts of TMAS and CMS dry powders were mixed (DM) to obtain TMAS:CMS (DM). Monolithic tablets were obtained by direct compression of excipient/PA mixes with 60% or 80% drug loads. The *in vitro* dissolution tests showed that ampholytic (TMACMS) and co-processed TMAS-CMS (SD) excipients with tracers selected, one for each class of Biopharmaceutical Classification System (BCS), were able to control the release even at very high loading (80%). It was found that, irrespective of preparation procedure, polyampholytic and polyelectrolytic starch excipients exhibited similar behaviours and generated stabilisation of tablets by electrostatic interactions. It was concluded that the presence of opposite charges located at adequate distances may impact the polymeric chain organisation and implicitly the control of drug release.

**Keywords:** polyampholytic starch, polyelectrolytic starch, electrostatic stabilization, high loading, controlled release systems, spray drying.

## PARTIE I- INTRODUCTION

## CHAPITRE I

### LES SYSTEMES A LIBERATION CONTROLEE DES PRINCIPES ACTIFS SOUS FORMES SOLIDES POUR ADMINISTRATION ORALE

#### 1.1 Généralités et définitions

Le terme « libération modifiée » englobe des systèmes de libération distincts possédant des zones de chevauchement et qui, parfois, portent à confusion (Allen et Cullis, 2004; Hoffman, 2008). *Une libération ciblée* du principe actif peut signifier un relargage rapide et concentré du médicament dans une zone bien précise afin d'assurer une efficacité optimale du traitement (Guo *et al.*, 2018). *Une libération prolongée* du principe actif englobe les systèmes à libération soutenue qui permet de prolonger la durée de libération du principe actif sans pour autant assurer la constance des doses libérées, tandis qu'*une libération contrôlée* signifie la prolongation de la durée de libération du principe actif à un rythme constant (Figure 1.1) (Ispas-Szabo *et al.*, 2000; Maroni, Alessandra *et al.*, 2016). Cependant, ces termes sont fréquemment utilisés à tort comme étant des synonymes (Qiu *et al.*, 2016).

Le concept de *libération modifiée* est né dans les années 1950 (Park, 2014). Axée essentiellement sur la voie orale et transdermique, la première génération des systèmes à libération contrôlée a laissé place, au début des années 1980, à la deuxième génération appelée « *système de libération intelligent* » (Yun *et al.*, 2015) qui s'axait sur des *libérations constantes à ordre « zéro », les systèmes autorégulés, les formulations injectables de dépôt à long terme*, mais le passage à travers des barrières biologiques

restait le plus grand défi de cette génération (Yun *et al.*, 2015). Plus récemment, la nanotechnologie a pris une place plus importante dans le développement des systèmes à libération contrôlée (Kermanizadeh *et al.*, 2018). La troisième génération nommée « *système de libération modulée* » doit surmonter des défis à la fois biologiques et physicochimiques (Park, 2014; Stevenson *et al.*, 2012; Yun *et al.*, 2015). Ces systèmes diffèrent aussi selon la forme galénique (l'aspect physique) et la voie d'administration du médicament. La voie orale, en latin « *per os* » est considérée comme la voie d'administration la plus utilisée chez l'humain (52 % des administrations sont faites par voie orale). Elle englobe différentes formes galéniques comme des comprimés, des gélules, des capsules, des solutions, et des suspensions.

Le présent chapitre portera sur les systèmes à libération contrôlée des principes actifs sous formes solides pour administration orale.

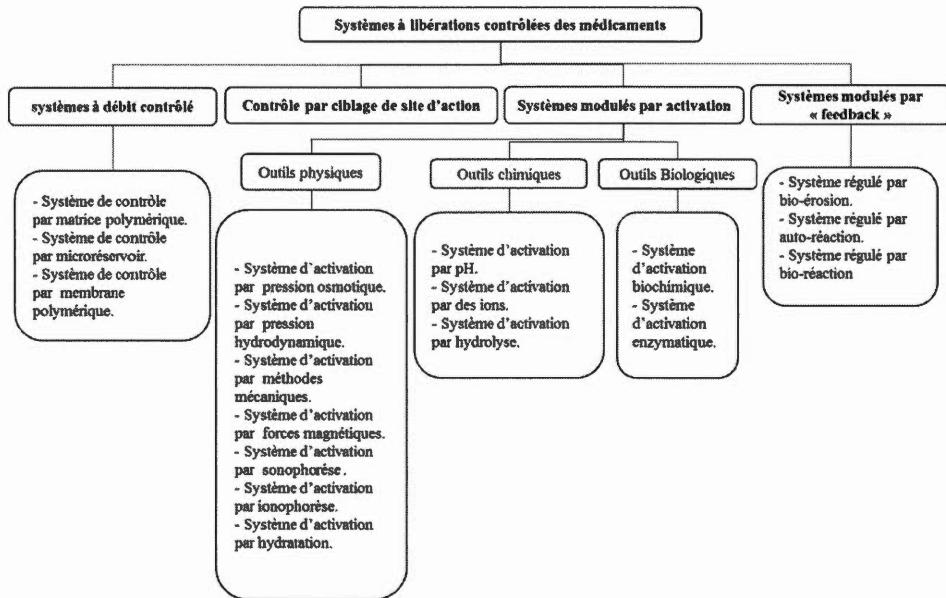


Figure 1.1 Diagramme récapitulatif des différents systèmes à libération contrôlée des médicaments d'après (Sultana et Varun, 2016).

## 1.2 Les systèmes à libération contrôlée des médicaments administrés par voie orale

Quel que soit le système à libération contrôlée choisi, la solubilité et la perméabilité du principe actif en question doivent être prises en compte dans le cas des administrations orales (Figure 1.2). Le Système de Classification des Biopharmaceutiques (SCB) permet de distinguer quatre classes médicamenteuses en se basant sur la solubilité des PAs donnée par la Pharmacopée américaine (USP), et la perméabilité intestinale obtenue par comparaison avec une administration intraveineuse (Figure 1.2) (Ku et Dulin, 2012; Shah, V. P. et Amidon, 2014).

- Classe I : Hautement solubles et hautement perméables (exp : Acétaminophène, Métoprolol, Théophylline).
- Classe II : Faiblement solubles et hautement perméables (Naproxène, Carbamazepine, Glibenclamide ).

- Classe III : Hautement solubles et faiblement perméables (Acyclovir, Aténolol, Ranitidine).
- Classe IV : Faiblement solubles et faiblement perméables (Furosemide, Chlorothiazide, Méthotréxate).

Un agent actif est dit « hautement soluble » si la dose maximale libérée immédiatement est soluble dans 250 mL d'une solution acide au neutre (pH entre 1-7), et est dit « faiblement soluble » dans le cas contraire. Ensuite, un agent est dit « hautement perméable » si, par rapport à une administration IV, 90 % ou plus de la dose orale est absorbée, et est dit « faiblement perméable » si moins de 90 % de la dose orale est absorbée (Shah, V. P. et Amidon, 2014).

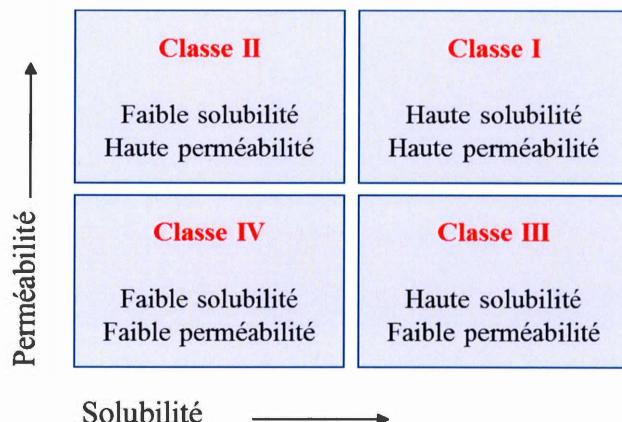


Figure 1.2 Système de classification des biopharmaceutiques (SCB) d'après (Hywel *et al.*, 2013).

### 1.2.1 Système à dissolution contrôlée

Ce système est contrôlé par la vitesse de passage de la forme solide vers la forme liquide du polymère : la dissolution (Mader *et al.*, 2018). Un système à dissolution contrôlée peut être obtenu par mélange direct de l'agent actif et du polymère (matrice) ou par

système d'enrobage. Dans le cas du système matriciel de dissolution, le taux et la vitesse de libération sont contrôlés par la mouillabilité et la modification de la porosité de la matrice. En revanche, le système de dissolution par enrobage est conditionné par la nature, l'épaisseur et la stabilité du matériel (polymère) d'enrobage (Mader *et al.*, 2018) (Figure. 1.3).

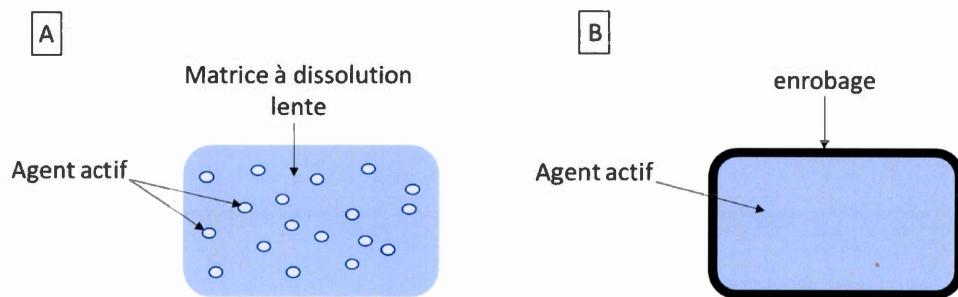


Figure 1.3 Schéma du système à dissolution contrôlée. A : système à dissolution contrôlée par matrice; B : système à dissolution contrôlée par enrobage.

### 1.2.2 Système à diffusion contrôlée

Ce système repose essentiellement sur la différence de concentration entre le milieu interne et externe du comprimé (Mader *et al.*, 2018). Le degré de diffusion du médicament à travers une membrane non-soluble, obtenue par enrobage, dans l'eau régule son taux de libération et la diffusion s'effectue d'un milieu concentré vers un milieu moins concentré jusqu'à équilibre osmotique (sans énergie). La diffusion est donnée par la loi de Fick (loi de diffusion) qui permet de corrélérer le flux des matières au gradient de concentration (Nokhodchi *et al.*, 2012; Siepmann et Siepmann, 2012) :

$J$ : flux,  $D$ : Coefficient de diffusion,  $dc/dx$ : variation de la concentration (dc) en fonction de la distance (dx).

#### 1.2.2.1 Système réservoir

Ce système repose sur une membrane polymérique inerte qui assure le contrôle de la libération du médicament par le maintien la diffusion des particules médicamenteuses (Figure 1.4) (Nokhodchi *et al.*, 2012; Stevenson *et al.*, 2012). La quantité de principe actif est mesurée par l'équation :

$$\frac{dm}{dt} = S \cdot k \cdot D \cdot \Delta C / l$$

$dm/dt$  : quantité de principe actif libérée en fonction du temps,  $S$  : surface de la particule medicamenteuse ,  $k$  : coefficient de partage,  $D$  : coefficient de diffusion,  $\Delta C$  : variance de concentration des deux côtés de la membrane.  $l$  : longueur du parcours de diffusion.

La membrane peut être déposée soit par encapsulation ou par enrobage (Nokhodchi *et al.*, 2012). Ce système permet une libération d'ordre zéro. L'acétate de polyvinyle, l'hydroxypropylmethylcellulose et l'éthylcellulose sont souvent utilisés comme barrières membranaires polymériques (Modi *et al.*, 2013; Stevenson *et al.*, 2012).

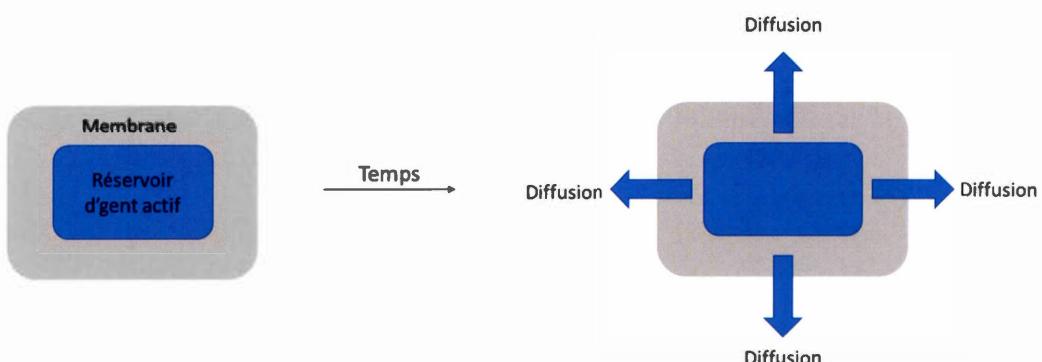


Figure 1.4 Systèmes à diffusion contrôlée, type réservoir.

### 1.2.2.2 Système matriciel

Ce système est largement utilisé pour le contrôle de relargage des différents agents actifs qui peuvent être soit encapsulés ou directement dispersés dans des matrices biocompatibles (Colombo, 1993; Modi *et al.*, 2013) (Tadros, 2010). Les matrices polymériques utilisées sont soit inertes, ou hydrophiles, ou érodables, et le mécanisme de contrôle diffère selon ces caractéristiques :

- Matrices hydrophiles :

Une fois hydratés, les comprimés à matrice hydrophile commencent à gonfler par absorption du fluide, ce qui forme une couche épaisse jouant le rôle d'une barrière contrôlant ainsi la libération de l'agent actif qui diffusera à travers cette membrane vers le milieu extérieur. Les polymères utilisés sont soit naturels (ex : tragacanthe; un exsudat de la séve de plusieurs espèces végétales), semi-synthétiques (ex : carboxyméthylcellulose), soit synthétiques (ex : polyacrylamide) (Korsmeyer *et al.*, 1983; Modi *et al.*, 2013; Nokhodchi *et al.*, 2012).

- Matrices lipophiles :

Ces matrices sont utilisées généralement pour des substances hautement solubles. Les cires sont souvent utilisées comme matrices et le contrôle de libération des agents actifs se fait par érosion. Cependant, ce type de matière était souvent critiqué pour la non-stabilité des taux de libération, les interactions matrice-agents actifs et la longueur du procès de formulation et de fabrication (Nokhodchi *et al.*, 2012).

### 1.2.3 Système de libération contrôlée par diffusion et dissolution

Les agents actifs sont contenus à l'intérieur d'un espace couvert par une membrane semi-soluble contenant des fractions solubles. Ceux-ci, une fois en milieu aqueux, s'hydratent, se solubilisent et forment des pores permettant la pénétration du solvant, avec le maintien des fractions non solubles qui assurent le contrôle de la libération de l'agent actif (Figure 1.5) (Siepmann *et al.*, 1999).

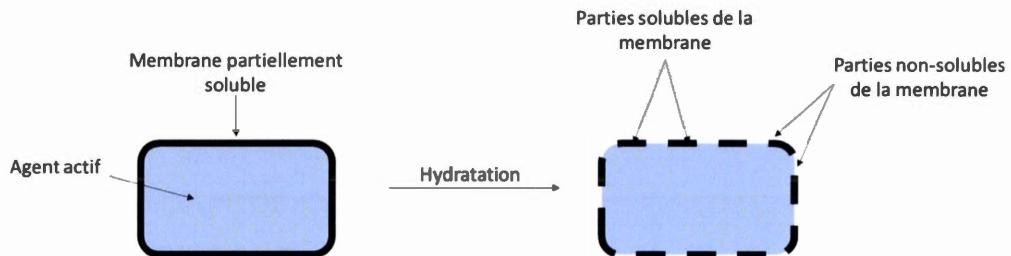


Figure 1.5 Système de libération contrôlée par diffusion et dissolution.

### 1.2.4 Systèmes de pompes osmotiques

Ce système a été utilisé pour la première fois en 1955 par les pharmacologistes Rose et Nelson (Rose et Nelson, 1955), et en 1973, ce concept était adapté aux besoins pharmaceutiques par Higuchi et Leeper (Higuchi et Leeper, 1973, 1976). Le système de pompe osmotique repose essentiellement sur la force osmotique, et est considéré comme l'un des plus contrôlés des systèmes de libération grâce à son indépendance des conditions physicochimiques et physiologiques (ex : pH) (Verma *et al.*, 2000; Zakeri et Pollok, 2016). Il est constitué d'une membrane semi-perméable, couvrant un corps central, muni d'un ou plusieurs orifices (Tuntikulwattana *et al.*, 2010; Verma *et al.*, 2000). Une fois le comprimé administré, le fluide pénètre à travers la membrane semi perméable, ce qui provoquera l'augmentation de la pression osmotique interne et par

conséquent, le largage du médicament dissout vers l'extérieur à travers l'orifice (Keraliya *et al.*, 2012; Verma *et al.*, 2000). Ce système peut s'adapter aux spécificités

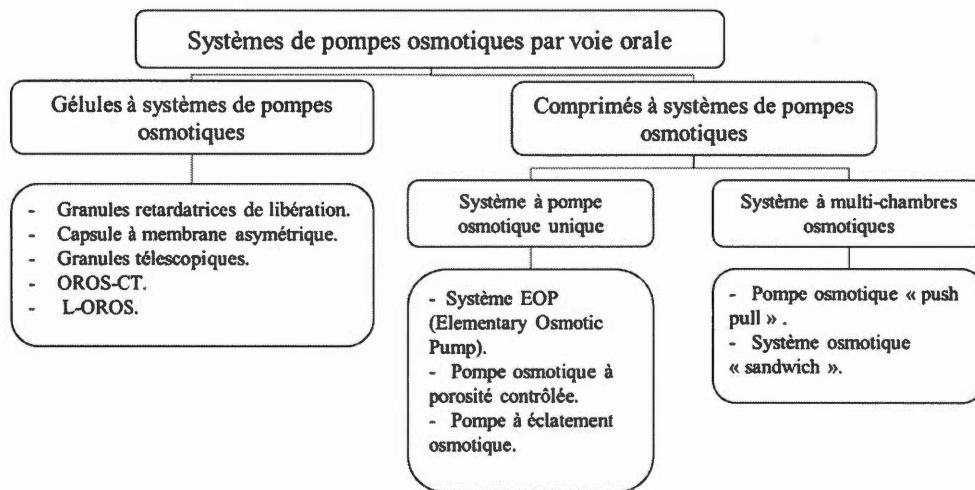


Figure 1.6 Diagramme récapitulatif des différents systèmes de type pompes osmotiques administrés par voie orale d'après (Harshad *et al.*, 2016).

du principe actif (solubilité, concentration) ou aux résultats visés par un ajustement des paramètres comme l'épaisseur de la membrane ou la taille de l'orifice (Nokhodchi *et al.*, 2012). Ce système peut être utilisé avec des agents actifs solubles et non solubles dans l'eau (Figure 1.6). Cependant, les agents habituellement utilisés sont des traitements pour des maladies chroniques (diabète, hypertension artérielle) à demi vie courte et avec une puissance élevée (Li, H. *et al.*, 2012; Verma *et al.*, 2002). Les « barrières » utilisées sont des membranes biocompatibles sélectivement semi-perméables (perméable à l'eau mais pas aux solutés), inertes, rigides, et capables de maintenir l'intégrité structurale tridimensionnelle afin d'assurer la continuité et la constance de la force osmotique motrice et ainsi la libération progressive et stable de l'agent actif (Keraliya *et al.*, 2012; Mathur et Mishra, 2017). Des polymères cellulosaques (ex : esters de cellulose) sont généralement utilisés comme

membrane (acétate de cellulose) (Mathur et Mishra, 2017; Verma *et al.*, 2002). Des agents plastifiants sont parfois ajoutés pour améliorer les propriétés physiques de la membrane. Ce système peut être adapté au gélules et au comprimé à pompe osmotique unique, ou à multichambre osmotiques (Figure 1.6). Les comprimés à pompes osmotiques peuvent contenir un ou plusieurs orifices installés lors de la fabrication par méthode physique (laser) ou *in situ* par agents chimiques porogènes comme les sels des métaux alcalins (sulfate de potassium, chlorure de sodium), mannitol, povidone et certains alcools (Tuntikulwattana *et al.*, 2010; Waterman *et al.*, 2011).

### 1.3 Défis, avantages et inconvénients des systèmes à libération contrôlée par voie orale

Tout système à libération contrôlée « idéal » doit répondre à plusieurs critères : Le matériel utilisé doit être inerte, biocompatible, stable et facilement malléable, tandis que le système doit être mécaniquement stable, facilement administrable, et capable de contenir une charge élevée en principe actif (Bodratti et Alexandridis, 2018).

Une formulation à système à relargage contrôlé doit répondre à des défis concernant l'agent actif, les polymères utilisés et les interactions agents actifs-polymères. Parmi les défis communs rencontrés lors du développement d'un système à libération contrôlée par voie orale :

- Les propriétés physicochimiques du médicament, notamment la solubilité (Sakeer *et al.*, 2017a; Shah, J. C. et Maniar, 1993), la charge (Sakeer *et al.*, 2018), la masse moléculaire (Ali et Byrne, 2009).
- Le temps de demi-vie d'une molécule doit être pris en compte pour éviter une toxicité par surdosage ou une inefficacité par élimination rapide. Généralement les molécules possédant un temps de demi-vie long ne nécessitent pas un système à libération contrôlée contrairement à celles possédant un temps de demi-vie court.

- Les quantités de principe actif par comprimé, le ratio PA /excipient, ainsi que la taille du comprimé (Sakeer *et al.*, 2018) : préférence pour les quantités élevées en PA afin de minimiser la fréquence des prises.
- La corrélation entre les profils de libération *in vitro* et *in vivo* et la marge de variance entre les deux études (Sahoo *et al.*, 2014; Santus *et al.*, 1997).

Parmis les avantages des systèmes à libération contrôlée par voie orale :

- Diminuer le nombre des prises journalières spécialement pour les traitements des maladies chroniques ou chez les personnes âgées.
- Assurer une biodisponibilité stable à dose thérapeutique et éviter les fluctuations dues à des prises multiples et des absorptions non contrôlées.
- Diminuer la quantité des produits exogènes potentiellement toxiques ingérés par les patients.
- Eviter les intoxications (dose toxique) et les inefficacités (dose faible) des traitements en assurant une stabilité de libération et une constance dans les doses thérapeutiques (Park, 2014; Yun *et al.*, 2015).
- Eviter certains effets secondaires indésirables comme les complications gastro-intestinales.
- Améliorer l'observance du traitement par diminution des nombres de prises.
- Meilleur contrôle et meilleure efficacité des traitements nocturnes à libération contrôlée.

Parmis les inconvénients des systèmes à libération contrôlée par voie orale :

- Les coûts de développement d'un nouveau système à libération contrôlée (matériels, expertises, tests de validation) sont plus élevés qu'un système classique.
- Les paramètres variables qui peuvent modifier la vitesse et le taux de libération comme la prise simultanée d'aliments, les changements du pH, l'état physiologique de l'organisme et du transit gastro-intestinal, sont peu ou pas contrôlables, et cela pourrait impacter le contrôle du système.

- La stabilité des produits est parfois difficilement contrôlable dans ce type de système comparé à des systèmes à libération classique.
- Sur le plan pratique, les comprimés à libération contrôlée ne sont pas écrasables ou cassables, car une modification de leur état physique avant l'ingestion pourrait compromettre leur système (Yun *et al.*, 2015).

#### 1.4 Les polymères dans les systèmes à libération contrôlée par voie orale

Selon leurs sources, les polymères peuvent être classés en polymères naturels comme les polysaccharides (amidon, cellulose, chitosane, agarose) ou semi-synthétiques qui sont des polymères naturels modifiés (polyéthylèneglycol, ou des polymères synthétiques (PVA) (Galbis *et al.*, 2016; Siracusa *et al.*, 2008). Ils sont aussi classés selon leurs structures, solubilités, biodégradabilités, ou mode de polymérisation (Siracusa *et al.*, 2008). Selon la technologie mise en œuvre, les polymères seront soit utilisés pour enrober les comprimés (encapsulation) soit comme matrice jouant le rôle d'échafaudage pour soutenir l'agent actif.

##### 1.4.1 Les polymères utilisés pour l'enrobage

L'enrobage consiste à appliquer une couche (film) sur une surface solide (ex : comprimés) afin de lui procurer de nouvelles propriétés (ex : système gastro-résistant, système à libération contrôlée) ou pour améliorer certains aspects physiques (goût, arôme, texture) (Lopes *et al.*, 2016). L'enrobage peut s'effectuer à partir de polymères sous forme liquide ou solide (poudre). Différents types de produits commerciaux sont utilisés pour l'enrobage des comprimés comme les dérivés de cellulose (éthylcellulose) (Mehta *et al.*, 2014), les dérivés polyacryliques ou autres. Ces polymères peuvent être préparés dans des milieux aqueux ou dans des solutions organiques (Melegari *et al.*, 2016). L'éthylcellulose est très utilisée dans l'enrobage des comprimés ; elle est inerte, non- irritant, non allergène, et possède des propriétés filmogènes appropriées (Mehta *et al.*, 2014; Porter, 2008). D'autres polymères comme PVA ou PEG peuvent être

dispersés avec l'éthylcellulose aqueux afin d'apporter de nouvelles propriétés au film d'enrobage (Porter, 2008).

#### 1.4.2 Polymères utilisés comme matrice : Exemple du HPMC

Le choix du polymère utilisé comme matrice à libération contrôlée se base essentiellement sur les propriétés physicochimiques de ce dernier mais aussi sur celles de l'agent actif. L'hydroxypropylméthylcellulose HPMC est un polymère hydrophile dérivé de la cellulose (Figure. 1.7) souvent utilisé en industrie pharmaceutique aussi bien pour l'enrobage (Macleod *et al.*, 1999) que pour former des matrices (Timmins *et al.*, 2016) grâce à sa bonne compressibilité et ses propriétés de gélification.

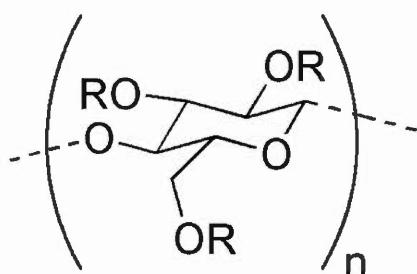


Figure 1.7 Structure chimique de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC).

Ce polymère semi-synthétique, stable entre pH 3 et pH 11, est un dérivé de type éther de cellulose, composé d'alkylhydroxyalkylcellulose portant dans sa structure des groupes hydroxypropyle et méthoxyle (Timmins *et al.*, 2016). Il permet la formation de matrices stables grâce à sa résistance au changement du pH fourni par l'absence d'ions (nature non ionique) ce qui permettrait des profils de libération reproductibles par absence d'interactions dans les milieux alcalins, acides, ou neutres (Tajiri *et al.*,

2015). Les types HPMC K100M et K4M sont les plus utilisés pour contrôler le relargage des agents actifs grâce à la résistance élevée de leurs chaînes à la traction (Adibkia *et al.*, 2014). Le système de contrôle de gonflement est modulé par la diffusion des fluides et l'érosion de la matrice. Pour le HPMC, qui est une matrice hydrophile, un mouvement synchronisé des différents fronts de fluides assurerait une constance dans la libération du principe actif déterminée par le taux de gonflement. Le degré de substitution et la nature du groupement greffé régulent aussi le degré de solubilité de l'HPMC (Caraballo, 2010; Li, C. L. *et al.*, 2005).

Les dérivés d'amidon sont très largement utilisés dans les domaines alimentaires, et biopharmaceutiques. Cependant, l'amidon est très peu utilisé sous sa forme native à cause de ses propriétés physicochimiques. Le chapitre suivant traitera des différentes méthodes de dérivatisation du polymère, ainsi que des utilisations, spécialement comme excipient pour des systèmes pharmaceutiques.

## CHAPITRE II

### AMIDON ET DERIVES DANS LA FORMULATION PHARMACEUTIQUE

#### 2.1 Amidon : Origine, structures, propriétés et caractérisation

L'amidon est un polysaccharide naturel composé d'unités répétitives de D-glucose. D'origine naturelle, il constitue la principale réserve d'énergie stockée chez les végétaux supérieurs. Il est obtenu après photosynthèse par les chloroplastes pour la forme de stockage d'énergie temporaire, ou par des amyloplastes sous forme de granules d'amidon pour la forme de stockage à long terme. Une fois synthétisé, l'amidon est stocké dans différents compartiments selon la nature et les propriétés des plantes, à savoir : les fruits, les racines, les grains, les tubercules et les rhizomes (You *et al.*, 2013). L'amidon est composé de deux polymères ayant tous les deux le D-glucose comme unité répétitive: l'amylose et l'amylopectine qui diffèrent essentiellement par les types de liaisons osidiques entre les molécules de glucose. L'amylose est un polyoside non ramifié de D-glucose composé de molécules liées par des liaisons osidiques entre les carbones 1 et 4 en orientation  $\alpha$  (lien  $\alpha$ -1,4); ceci permet une organisation en hélice  $\alpha$ . L'amylopectine est un polyoside ramifié possédant les mêmes liens osidiques que l'amylose ( $\alpha$ -1,4) formant un long squelette hautement polymérisé (jusqu'à 45 unités de glucose), et des ramifications par liens osidiques  $\alpha$ -1,6 (jusqu'à 20 unités de glucose) (You *et al.*, 2013). L'amylopectine possède aussi une organisation hélicoïdale  $\alpha$  même pour les ramifications latérales (Figure 2.1).

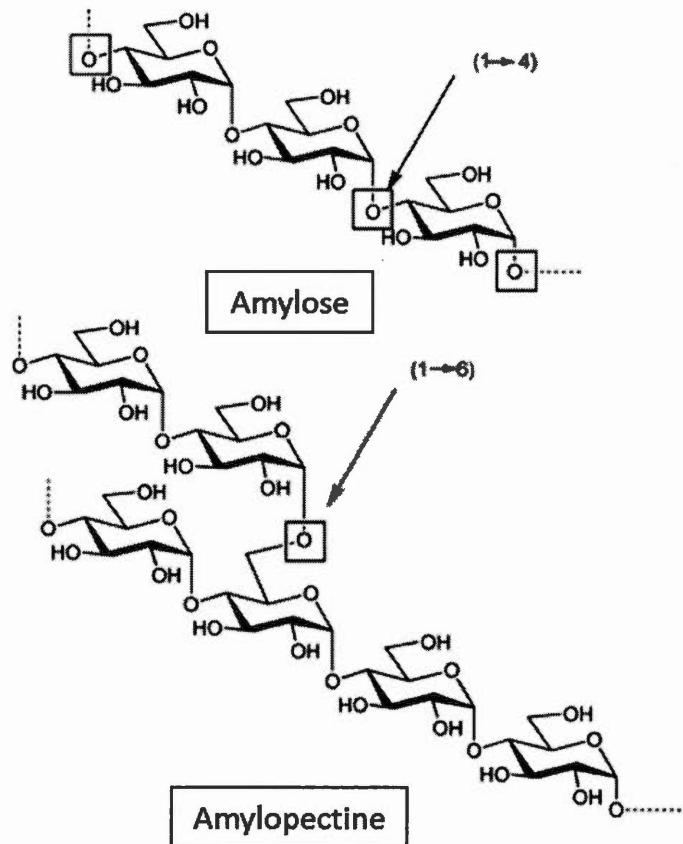


Figure 2.1 Représentation schématique de la structure linéaire d’amylose et la structure ramifiée d’amylopectine d’après (Damager *et al.*, 2010).

Le ratio de ces deux polymères diffère selon l’origine botanique de la source, et cela impacte directement les propriétés physico-chimiques de l’amidon ; par exemple, l’amidon des légumineuses (pomme de terre) est composé d’environ 23% d’amylose et 77 % d’amylopectine tandis que l’amidon des céréales est composé d’environ 20 % d’amylose et 80 % d’amylopectine (Coma, 2010) (Tableau 2.1). La solubilité est le paramètre le plus influencé par le ratio amylose/amylopectine, car l’amylose, grâce à son poids moléculaire élevé, offre une viscosité élevée après hydratation et par conséquent, la formation d’un biofilm résistant. Par contre, l’amylopectine grâce à ses ramifications, donne un gel moins visqueux à cause de la dispersion de ses molécules en milieu aqueux (Lemieux, 2012).

Tableau 2.1. Teneur en amylose/amylopectine selon la source d'amidon. Adaptation d'après Coma (Coma, 2010).

Source	Amylose (%)	Amylopectine (%)
Pomme de terre	23	77
Riz	15-35	65-85
Maïs	25	75
Blé	20	80
Banane	17	83

La structure et l'organisation de chaînes polysaccharidiques de l'amidon ont largement été étudiées. La structure semi-cristalline était mise en évidence grâce à la diffraction des rayons X (DRX) sur poudre d'amidon (Figure 2.2) montrant la présence de zones pseudo-cristallines (organisées) constituées essentiellement de doubles hélices et des zones amorphes (non organisées) autour des ramifications  $\alpha$ -1,6. Le grain d'amidon consiste en l'alternance des zones cristallines et amorphes organisées en lamelles concentriques (Figure 2.3) avec orientation des hélices vers l'intérieur (Buléon *et al.*, 1998; Tester *et al.*, 2004).

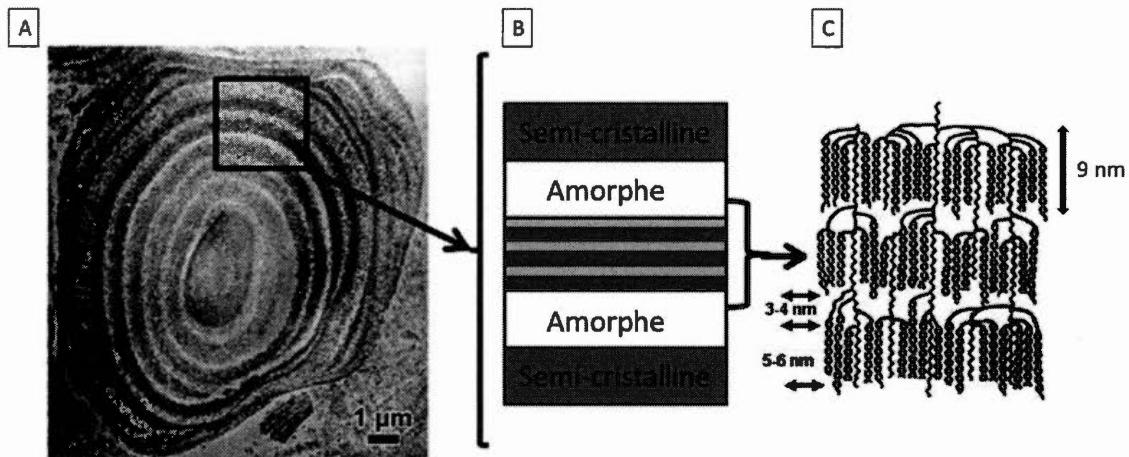


Figure 2.2. Organisation en lamelles et alternance des zones cristallines et amorphes dans un grain d'amidon : (A) Image en microscopie électronique d'une coupe ultrafine d'un grain d'amidon. (B) représentation schématique de l'alternance des zones cristallines et amorphes. (C) l'orientation radiale des hélices. D'apés (Pérez et Bertoft, 2010).

La conformation des hélices influence profondément les propriétés de l'amidon. Cependant ce paramètre est à son tour influencé par les conditions climatiques et environnementales(Mateescu *et al.*, 2015). Les hélices type A sont présentes essentiellement dans les grains d'amidon de céréales, car les températures élevées et le climat sec favorisent ce type de conformation contrairement au type B essentiellement retrouvé dans les tubercules comme les pommes de terre, favorisé par l'humidité. Les types A et B possèdent des structures comparables en double hélices et peuvent être présents simultanément dans les mêmes grains d'amidon (Imberty *et al.*, 1991). Ils sont composés de deux hélices antiparallèles stabilisées par des liaisons faibles comme les ponts hydrogènes et les interactions de van der Waals(Mateescu *et al.*, 2015).

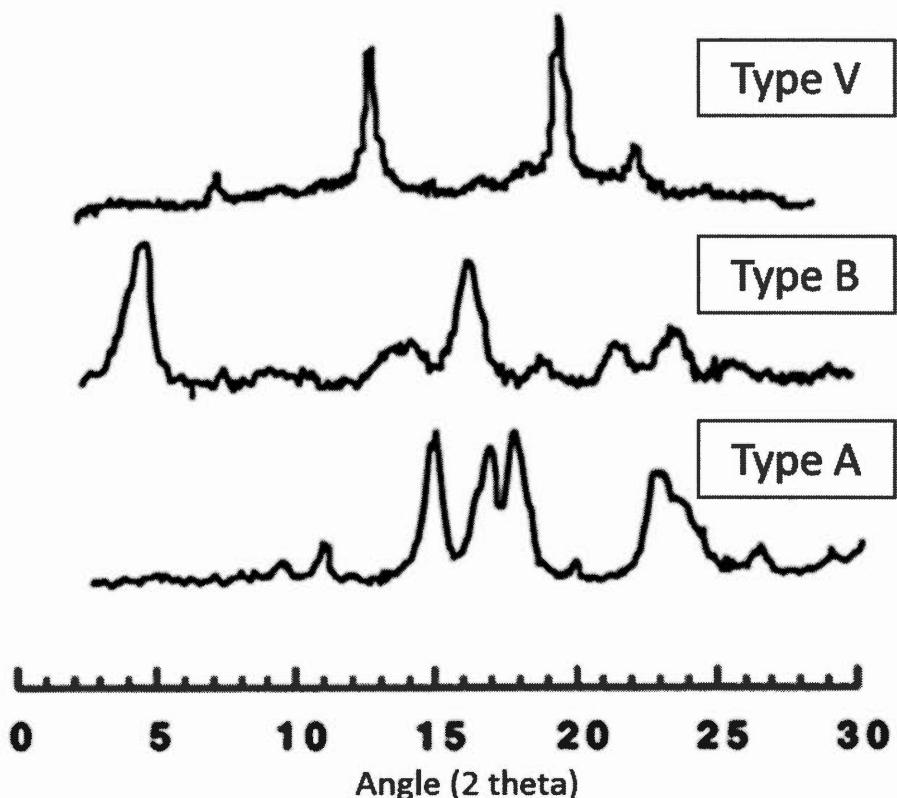


Figure 2.3 Diagramme de diffraction des rayons X sur les types V, B et A d'amidon d'après (Mateescu *et al.*, 2015).

La similitude conformationnelle entre les hélices A et B avait suscité des hypothèses de transitions entre les deux formes (Imberty *et al.*, 1991) ; cependant, les hélices de types A possèdent une cavité obstruée qui ne permet pas la pénétration de l'eau à l'intérieur de l'hélice contrairement à la cavité de l'hélice B, qui permet la pénétration des molécules d'eau. Aussi, l'unité répétitive des A et B est différente : maltotriose pour hélice A et maltose pour hélice B (Imberty *et al.*, 1991). Les hélices de type C représentent une forme intermédiaire entre les hélices A et B (ce type est généralement retrouvé dans la semence des fabacées).

L'hélice type V est une configuration à part des chaînes polysaccharidiques de l'amylose obtenue après modification conformationnelle des hélices A ou B, et un réarrangement de la structure native, obtenue soit après chauffage ou après traitement par certains alcools, émulsifiants ou autres agents complexants (Mateescu *et al.*, 2015). Le type V possède une structure en simple hélice, avec une cavité généralement plus large que celle des hélices A et B mais avec un pas d'hélice moins grand. La nature des molécules incluses dans la cavité des hélices influence le diamètre et le nombre d'unités de glucose par un tour d'hélice. La cavité de type V possède un caractère hydrophobe créé par les atomes d'oxygène des liaisons osidiques orientés vers l'intérieur de l'hélice. La formation de ce type d'hélices repose essentiellement sur les ponts hydrogènes intramoléculaires entre les unités de glucose voisines ou éloignées. La température, le pH et la nature du solvant influencent directement la formation des ponts hydrogène et par conséquent, l'apparition de la conformation V (Figure 2.3) (Mateescu *et al.*, 2015). De nombreuses études avaient comparé les propriétés physicochimiques des différents amidons selon leurs origines végétales. Des différences au niveau du pH, potentiel zéta ( $\zeta$ ) en solution, densité, teneur en amylose et taille des chaînes polysaccharidiques avaient été observées (Choy *et al.*, 2016; Teh *et al.*, 2014). De même, des études morphologiques effectuées par microscopie électronique à balayage (MEB) montrent des tailles et des formes spécifiques à l'origine botanique des grains d'amidon (Figure 2.4) (Choy *et al.*, 2016; Sujka et Jamroz, 2013).

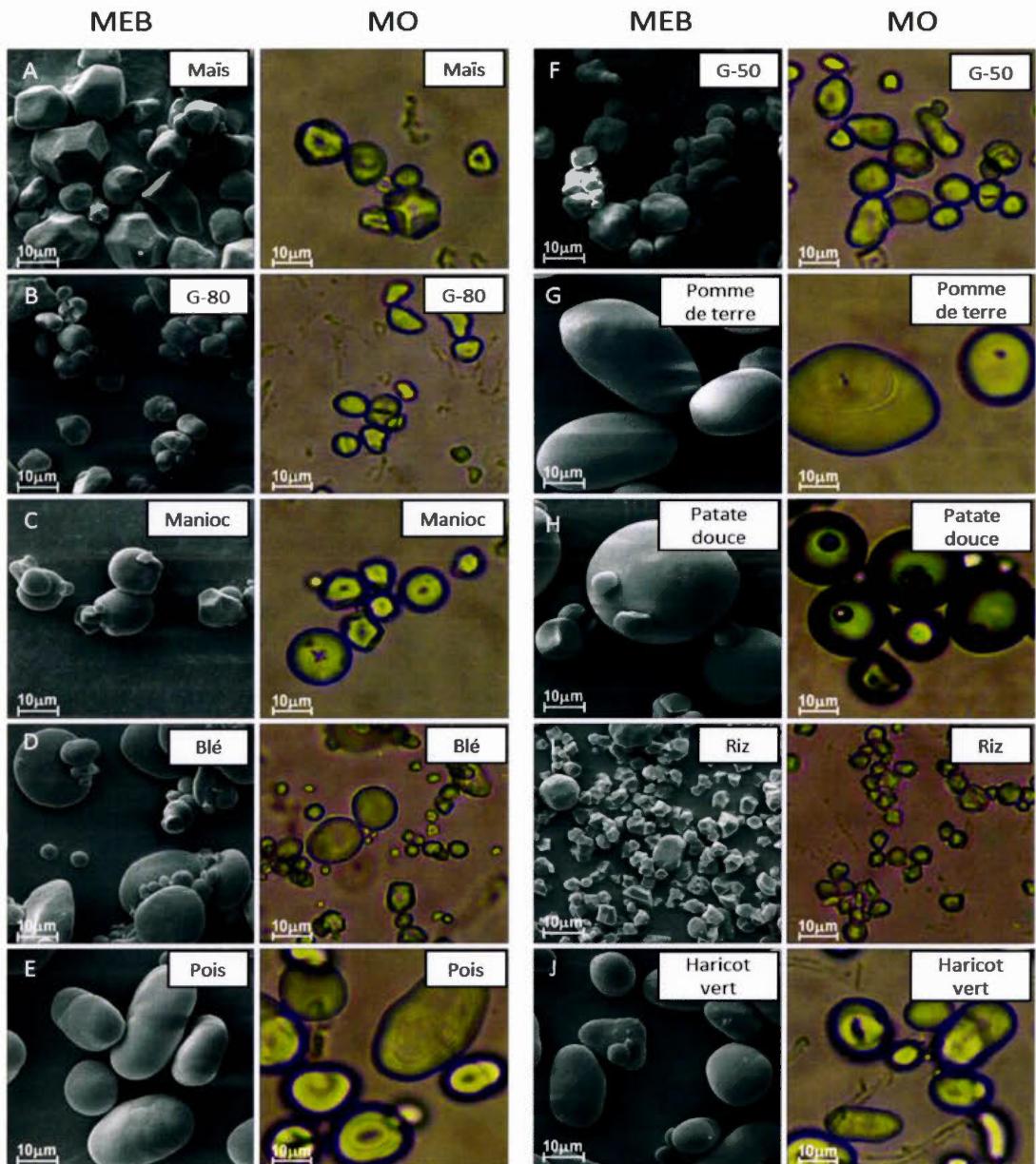


Figure 2.4. Images par microscope électronique à balayage (MEB) et microscope optique (MO) des grains d'amidon de différentes sources végétales. (A) maïs, (B) G-80 (80% amylose), (C) manioc, (D) blé, (E) pois, (F) G-50 (50% amylose), (G) pomme de terre, (H) patate douce, (I) riz, (J) haricot vert. D'après (Khalid *et al.*, 2017).

## 2.2 Modification de l'amidon

Comme mentionné précédemment, le ratio amylose:amylopectine influence directement les propriétés de l'amidon comme la viscosité et cristallinité ; c'est pour cela que l'amidon industriel est composé de ratios contrôlés selon les fonctions ciblées. Une teneur élevée en amylose (High amylose starch, HAS) offre une viscosité moindre et une manipulation plus facile du produit, idéale pour une modification chimique de l'amidon (Mateescu *et al.*, 2015). Présentement, plusieurs compagnies industrielles comme Henkel (Allemagne), GPC (Etats Unis), Avebe (Pays-Bas), Cargill (Etats Unis), produisent de l'amidon à ratio amylose:amylopectine connu. Le produit commercial Hylon VII® (70% :30% amylose:amylopectine) fabriqué par National Starch/ Ingredion (Etats Unis) à partir du maïs, est à contenu élevé en amylose HAS (high amylose starch) a été utilisé pour nos synthèses et manipulations.

Bien qu'il soit utilisé dans différents domaines grâce à ses innombrables avantages : naturel, abondant, facilement modifiable, faible coût, l'amidon est très peu utilisé sous sa forme native essentiellement à cause de sa faible solubilité dans l'eau froide. Afin d'améliorer ses propriétés, l'amidon peut subir des modifications : gélatinisation, gélification, réticulation (cross-linking), substitution des groupements hydroxyles, lyophilisation, traitement par ultra haute température (UHT), ainsi que la congélation.

### 2.2.1 Gélatinisation

La gélatinisation met en jeu l'hydratation et la solubilisation des macromolécules d'amylose, ce qui se traduit par une augmentation de la viscosité de la solution (Carlstedt *et al.*, 2015; Lenaerts *et al.*, 1998). Le comportement des grains d'amidon en milieu aqueux repose essentiellement sur les ponts hydrogènes formés entre les groupements hydroxyles du polysaccharide et les molécules d'eau procurant une certaine autostabilisation « self-assembling » (Mateescu *et al.*, 2015). Le gonflement peut être réversible (sans chauffage), mais peut également être irréversible si un

chauffage est appliqué mais sans atteindre la température de gélatinisation ; Dans ce cas, un changement conformationnel est créé (Chen *et al.*, 2017). La viscosité de la solution est régulée par la libération des molécules d’amylose après rupture des ponts hydrogène à la suite du gonflement des grains; elle est directement proportionnelle au nombre de molécules d’amylose libérées (Chen *et al.*, 2017). Ce type d’amidon modifié est utilisé dans le textile, l’agroalimentaire, l’industrie du papier et de l’emballage, et plus récemment, dans le pharmaceutique et le domaine médical (Sakeer *et al.*, 2017a).

### 2.2.2 Gélification

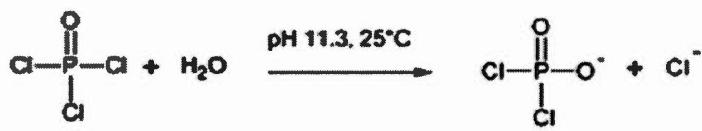
L’amidon gélifié est obtenu après refroidissement d’une solution d’amidon gélatinisée. Ce phénomène est essentiellement attribué à la fraction d’amylose (non ramifiée). La réorganisation des doubles hélices de l’amylose en hélice simple par liaisons faibles se traduit par une structure gélifiée du produit (Gidley et Bociek, 1988). Un chauffage suivi d’un refroidissement permet cette réorganisation structurale à condition que la concentration de la solution soit  $\geq 6\%$  w/v pour permettre même l’incorporation des grains d’amidon gonflés dans la matrice d’amylose et de former ainsi un réseau viscoélastique. Cette propriété permet l’utilisation de l’amidon dans différents secteurs (textile, alimentaire, pharmaceutique et biotechnologique). Bien que son rôle dans la gélification soit minime, l’amylopectine pourrait aussi intervenir, mais cela nécessiterait plus de temps que l’amylose et une concentration élevée en amidon (Gidley et Bociek, 1988).

### 2.2.3 Réticulation

L’amidon réticulé (crosslinked starch CLS) avait fait le sujet de nombreuses études ayant pour but d’améliorer les propriétés de l’amidon pour des utilisations dans le domaine alimentaire ou pharmaceutique (Chai *et al.*, 2018; Mateescu *et al.*, 2006; Rioux *et al.*, 2002). La réticulation consiste à connecter des chaînes polysaccharidiques voisines ou adjacentes par un agent de réticulation bi- ou multi- fonctionnel par des

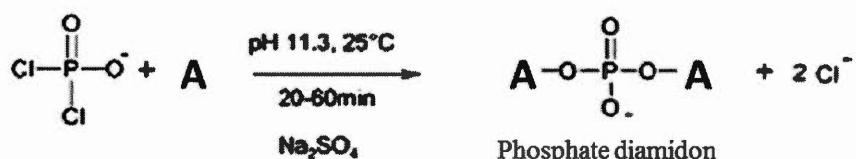
liaisons éther ou ester ou autres entre les groupes hydroxyles primaires -OH<sub>(6)</sub> ou secondaires -OH<sub>(2)</sub>, -OH<sub>(3)</sub> libres de l'amidon et l'agent de réticulation (Shah, N. *et al.*, 2016). Le laboratoire du Professeur Mateescu (UQAM) avait fortement participé au développement et à la compréhension des différents phénomènes régulant le comportement de l'amidon réticulé comme l'impact du degré de réticulation sur le polymère (Dumoulin *et al.*, 1999; Mateescu *et al.*, 2006; Mateescu *et al.*, 1995) dans la libération ciblée ou contrôlée des PA. Une dizaine de publications, plusieurs chapitres de livres et deux brevets pour des produits actuellement commercialisés étaient le fruit de ces recherches : Contramid® (Labopharm), qui est un excipient à base d'amidon de maïs à teneur élevée en amylose et à faible degré de réticulation, possède des propriétés viscoélastiques formant un gel en milieu aqueux, et permet ainsi une meilleure rétention du PA (Mateescu *et al.*, 1995; Ravenelle et Rahmouni, 2006). La preuve que le degré de réticulation peut complètement modifier le comportement du polymère était fournie par un deuxième brevet Liamid® (Labopharm) qui, contrairement au Contramid®, est utilisé comme excipient liant/désintégrant grâce à son degré de réticulation élevé (Cartilier *et al.*, 1997).

I



Dichlorure de phosphore

Étape 1: synthèse de dichlorure de phosphore

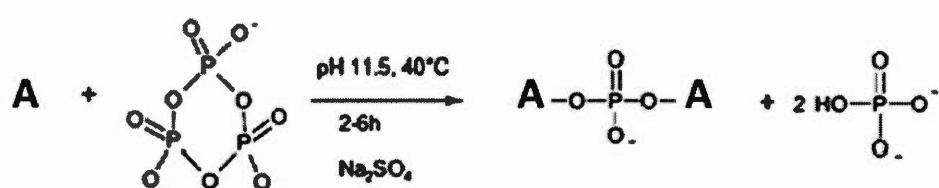


Phosphate diamidon

Étape 2: synthèse de phosphate diamidon

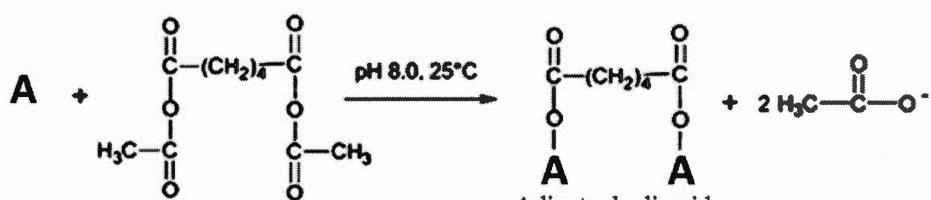
(A): Amidon

II



(A): Amidon

III



Adipate de diamidon

(A): Amidon

Figure 2.5 Exemples d'agents de réticulation d'amidon : (I) Réticulation d'amidon de maïs par oxychlorure de phosphore ( $\text{POCl}_3$ ). (II) Réticulation d'amidon de maïs par trimétaphosphate de sodium. (III) Réticulation d'amidon de maïs par adipate. D'après (Shah, N. et al., 2016).

En plus de la nature de l'amidon, du degré de réticulation et des conditions de synthèse (pH, température), l'agent de réticulation est considéré à son tour comme étant un

élément clef de la modification. Le choix de ce dernier impacte drastiquement les propriétés du polymère. L’oxychlorure de phosphore ( $\text{POCl}_3$ ) est utilisé comme agent de réticulation, permettant de donner rapidement un complexe phosphate d’amidon. Le pH alcalin ( $\geq 11$ ) produit une réaction plus rapide (Gao *et al.*, 2014; Shah, N. *et al.*, 2016). Cette réaction s’effectue en deux étapes : formation de dichlorure de phosphate en solution, suivi de la réticulation proprement dite et la formation de phosphatediamidon (Figure 2.6). Le sodium trimethaphosphate (STMP,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) peut être aussi utilisé comme agent de réticulation avec un temps de réaction plus long que celui de l’oxychlorure de phosphore. L’epichlorhydrine n’est plus utilisé comme agent réticulant aux Etats Unis à cause de l’effet cancérigène des halohydrines.

Il existe d’autres agents de réticulation approuvés par la FDA comme le tripropyl phosphate, le glutaraldehyde et des mélanges d’agents réticulant comme le mélange sodium tripolyphosphates STPP et STMP. Il existe aussi des reticulations physiques se basant sur des liaisons non covalentes comme les interactions électrostatiques entre les charges opposées ou les ponts hydrogènes (Ye *et al.*, 2016).

#### 2.2.4 Fonctionnalisation

En raison de ses nombreux groupements hydroxyles libres ( $-\text{OH}$ ), l’amidon offre d’innombrables possibilités de modification; la plus simple est la substitution au niveau des groupements  $-\text{OH}$  par d’autres groupements fonctionnels; cette modification est nommée : fonctionnalisation de l’amidon (Lazik *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2012). Une étude avait montré que les trois groupements  $-\text{OH}$  sur  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_3$  et  $\text{C}_6$  par unité de glucose, n’avaient pas le même degré de réactivité, et que le groupement  $-\text{OH}_{(\text{C}2)}$  est plus susceptible à la substitution suivi d’ $-\text{OH}_{(\text{C}6)}$  puis d’ $-\text{OH}_{(\text{C}3)}$  (Heinze et Koschella, 2005).

### 2.3 Carboxyméthylamidon : synthèse, caractérisation et applications

Le traitement d'amidon natif par sodium monochlorocétate (SMCA) donne une substitution par des groupements carboxyméthyles; l'amidon obtenu est appelé carboxyméthyleamidon (CMA), décrit pour la première fois en 1924 par Chowdhury (Sloan *et al.*, 1962; Zhang *et al.*, 2003) comme un polymère hydrophile et sensible à l'alpha-amylase malgré les substitutions. Il peut avoir différentes appellations comme CM-HAS (charboxymethyl high amylose starch) (Calinescu *et al.*, 2005), ou encore glycolate sodique d'amidon (GSA).

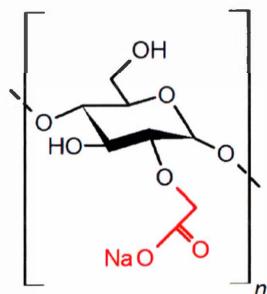


Figure 2.6 Structure chimique du carboxyméthylamidon (CMA).

Le laboratoire du Professeur Mateescu avait été parmi les premiers groupes de recherche explorant l'utilisation du CMA comme excipient pour formulations galéniques sèches à libération modifiée que ce soit pour de petites molécules (Assaad et Mateescu, 2010), des agents biologiques comme les microorganismes : *Escherichia coli* (Calinescu *et al.*, 2005; Calinescu *et al.*, 2007), des probiotiques (Calinescu et Mateescu, 2008), ou des enzymes comme la diamine oxydase (Blémur, 2014; Calinescu *et al.*, 2012). Des complexes CMA : lipides (Friciu *et al.*, 2013; Larbi, 2014) ou avec d'autres polymères (chitosane) (Assaad *et al.*, 2012; Assaad *et al.*, 2011; Mateescu *et al.*, 2013) avaient aussi été étudiés. Les caractéristiques chimiques et les méthodes de préparation du CMA avaient fait l'objet de plusieurs études, comme

l'impact du degré de substitution (DS) et du degré de protonation (DP) sur le comportement du polymère (Assaad et Mateescu, 2010; Lemieux *et al.*, 2010), ou des méthodes de synthèse et de séchage (Lemieux *et al.*, 2010).

### 2.3.1 Synthèse et caractérisation du CMA

Le choix de la méthode de synthèse se base essentiellement sur les caractères recherchés et le domaine d'utilisation du produit. Le CMA est utilisé dans le domaine du textile (Mostafa et Morsy, 2004), pharmaceutique comme agent désintégrant, liant, ou excipient pour libération contrôlée (Hong, Y. *et al.*, 2016); il peut également être utilisé dans les domaines alimentaire et cosmétique (Zhang *et al.*, 2003). Les caractéristiques physico-chimiques (viscosité, solubilité, gélatinisation, degré de substitution, type des hélices, liaisons hydrogènes et forces ioniques) sont fortement influencées par la méthode de synthèse (Assaad et Mateescu, 2010; Lemieux *et al.*, 2010; Masina *et al.*, 2017). La synthèse aqueuse du CMA consiste en la dissolution de l'amidon natif dans un milieu alcalin (NaOH concentré), en présence de l'acide monochloroacétique; cela permettra l'ouverture des grains et l'exposition des groupes  $-OH$ , par la suite, substitués par des groupements CM. Cette méthode est utilisée exclusivement pour la synthèse de CMA à DS faible ou moyen. La synthèse en milieu organique comme DMSO ou i-propanol permet d'atteindre des DS très élevés généralement demandés dans le domaine du textile et l'emballage. Il existe aussi des méthodes physiques à l'aide de rayonnements gamma qui procurent également des DS élevés (Wu et Song, 2006).

La caractérisation du CMA consiste en la validation de la substitution et le greffage du carboxyméthyle en premier lieu. La spectroscopie infrarouge FTIR (Fourier-transform infrared spectroscopy) montre l'apparition de deux pics spécifiques à  $1590\text{ cm}^{-1}$  et  $1418\text{ cm}^{-1}$  attribués à l'étirement du  $\text{COO}^-$  et témoignent d'une substitution réussie (Sakeer *et al.*, 2018). Le degré de substitution (DS) est le nombre moyen de  $-OH$  substitué par unité de glucose. Il est considéré comme l'un des paramètres les plus influents sur les

propriétés du CMA (Lemieux, 2012). Il est exprimé soit en nombre (maximum 3 substitution/glucose) ou en pourcentage. Le DS est généralement mesuré par titrage inverse après dissolution du CMA dans l'hydroxyde de sodium (NaOH) à concentration connue, par la suite titré par l'acide chlorhydrique (HCl) à concentration connue jusqu'au point d'équivalence (Lemieux *et al.*, 2009). Il peut être aussi déterminé ou confirmé par RMN ou FTIR (Calinescu *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2012). L'analyse thermogravimétrique (TGA) permet de visualiser la perte de masse en fonction de la température. La DRX (diffraction des rayons X) donne l'information sur le degré d'ordre et de désordre : la désorganisation de la structure native de l'amidon par perte de cristallinité après rupture des ponts hydrogènes avec l'apparition des zones amorphes suite à l'ouverture des grains d'amidon en milieu alcalin. Ces zones sont composées essentiellement par des hélices type V, et substitution de certains groupements –OH (Mateescu *et al.*, 2015). La microscopie électronique à balayage permet d'étudier la morphologie des grains. De même, d'autres paramètres comme la viscosité, les propriétés filmogènes, le degré d'hydratation et de protonation, la taille des particules, le potentiel Zeta, et la digestion enzymatique peuvent être étudiés selon leurs intérêts.

### 2.3.2 Applications pharmaceutiques du CMA

#### 2.3.2.1 Excipient gastro-résistant sensible au pH

Les groupements CM (anioniques) offrent un caractère pH-dépendant au CMA; cette propriété permet son utilisation comme excipient gastro-résistant pour des formulations galéniques sèches (comprimés), que ce soit pour protéger le PA de l'acidité gastrique (Calinescu *et al.*, 2007) ou pour cibler une libération intestinale (Ispas-Szabo *et al.*, 2016). Le CMA possède des propriétés micromeritiques lui permettant le mélange à sec lors des formulations, et la compréssion directe. En milieu gastrique acide (pH 1.2), les groupements CM se protonent et se dimérisent par ponts hydrogènes; cela se traduit par la formation d'une matrice compacte et stable qui empêche la diffusion de l'acidité

gastrique vers l'intérieur et de l'agent actif vers le milieu extérieur (gastro-resistance). En milieu intestinal, le CMA est déprotoné et hydraté ce qui permet le relargage de l'agent actif principalement par phénomène d'érosion (Ispas-Szabo *et al.*, 2016).

### 2.3.2.2 Excipient désintégrant

Un excipient de type désintégrant ou « super-désintegrand » est un agent qui possède une grande capacité d'absorption d'eau et des fluides pour permettre un gonflement et une déformation rapide du comprimé provoquant une libération presque instantanée des PA. L'origine botanique de l'amidon, le degré de substitution et la taille des grains influencent directement la solubilité du produit. L'amidon de maïs est généralement utilisé pour la synthèse du glycolate d'amidon sodique industriel. Le gonflement rapide de ses grains permet une meilleure hydratation du complexe et une libération rapide du PA (Desai *et al.*, 2014). De plus, la dureté des comprimés constitue un paramètre clé dans la fabrication des comprimés à désintégration rapide car cela influencera directement les temps de libération du PA (Ingram et Lowenthal, 1966). Le glycolate d'amidon sodique est commercialisé sous différentes dénominations : VIVASTAR® EXPLOTAB® (JRS Pharma), GLYCOLYS®, EXPLOSOL® (Roquette), Primojel® (DFE Pharma).

### 2.3.2.3 Excipient pour comprimé à charge élevée en agent actif

Le CMA peut subir différentes modifications pour améliorer ses propriétés. La réticulation (Mulhbacher *et al.*, 2001), la complexation (exp : avec chitosane) (Assaad *et al.*, 2012), ou la substitution (Sakeer *et al.*, 2017a) avaient permis un meilleur contrôle et la prolongation de la libération des PAs que celui observé avec CMA seul. La réticulation du CMA (Mulhbacher *et al.*, 2001) avait permis une charge plus élevée en PA allant jusqu'à 60% selon la nature et la solubilité du médicament (Mulhbacher *et al.*, 2005). L'hydratation et l'érosion du CMA réticulé assurent un profil de libération linéaire acceptable même à charge élevée. Cette même étude avait aussi porté sur

l'utilisation de l'amoéthyl amidon (AEA) et l'acétate d'amidon (AcA) dans le même intérêt, ce qui avait ouvert la voie à l'amidon ampholytique portant des groupements CM et AE pour les formulations difficiles ou problématiques (Sakeer *et al.*, 2017a) ou à charge élevée en PA (60%) (Sakeer *et al.*, 2018). Les profils de libération de l'acétaminophène (neutre), mesalamine (amphoterique), acide acétylsalicylique (acide), et metformine (basique) affichent une tendance linéaire soutenue dans le temps malgré des natures chimiques différentes et des degrés de solubilité variables des PAs (Sakeer *et al.*, 2018; Sakeer *et al.*, 2017a)

### 2.3.3 Les nouvelles modifications du CMA

Le CMA, bien qu'il soit efficace comme excipient offrant une gastro-résistance, il a néanmoins montré ses limites pour les libérations prolongées des PAs visant les parties distales du tube digestif (colon); cela est dû à sa déprotonation rapide en milieu intestinal neutre ou alcalin. Pour remédier à cet obstacle, un complexe polyélectrolytique (CPE) CMA/chitosane (polyoside naturel) avait donné de meilleurs résultats de contrôle (Assaad et Mateescu, 2010) comparé au CMA seul. Le chitosane, étant un polymère cationique, est aussi sensible au changement du pH et au phénomène protonation/déprotonation pH-dépendant (Mateescu *et al.*, 2015). Il offre une meilleure stabilité du CPE par des rapprochements des chaînes sous l'influence des forces électrostatiques, et un ralentissement de la dissolution du complexe en milieu intestinal, et par conséquent, une libération prolongée de l'agent actif (Assaad *et al.*, 2011). La pénétration des fluides SGF et SIF observée par RMN (Figure. 2.8), montre clairement la différence d'hydratation et de diffusion des différentes matrices en fonction du temps.

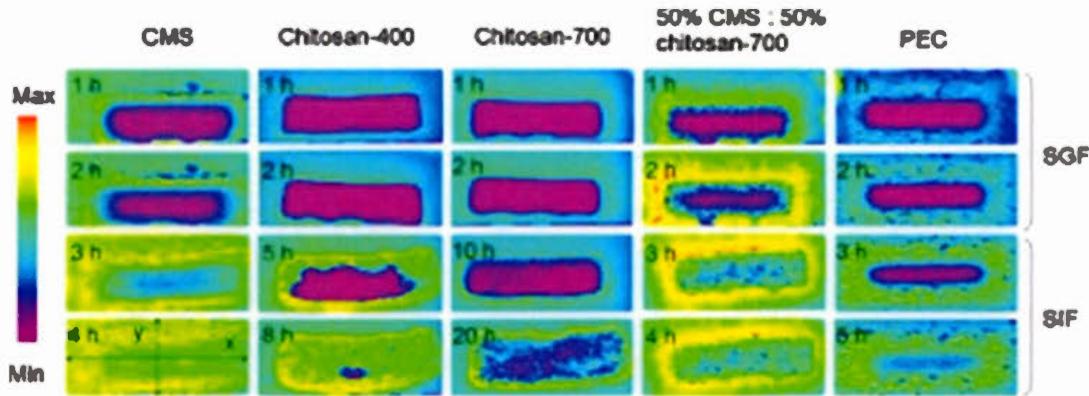


Figure 2.7 Images RMN de comprimés placebo CMA (CMS), chitosane-400, chitosane-700, 50% CMS :50% chitosane et PEC à différents moments. Les comprimés étaient immergé 2h en SGF en suite transférés en SIF (Assaad *et al.*, 2011)

Une autre stratégie d'amélioration des performances du CMA impliquait la formation de complexe avec un lipide (lecithine). Elle avait été proposée comme un nouveau modèle d'excipient pour le relargage ciblant le colon (Friciu *et al.*, 2013). Le but était d'augmenter l'hydrophobicité de la matrice afin de diminuer le degré d'hydratation du complexe. L'hypothèse est que la complexation CMA/Lecithine se fait via inclusion des chaînes dialkyliques dans la lumière des hélices V et par des liaisons ioniques et hydrophobiques des chaînes restantes (Figure 2.8). Cette matrice avait permis de contrôler la libération de mesalamine jusqu'à 12 heures (Friciu *et al.*, 2013).

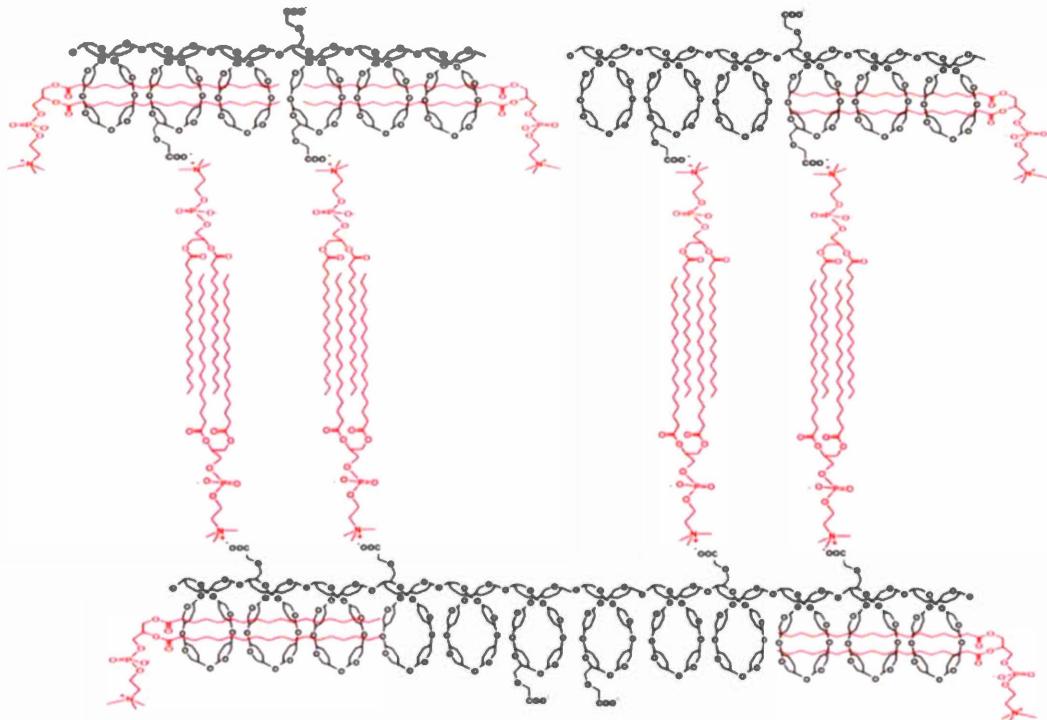


Figure 2.8 Schéma hypothétique du complexe CMS/Lecithine. (Friciu *et al.*, 2013).

Plus récemment, à la lumière de ces résultats, un amidon ampholytique AE-CM-St (aminoéthylcarboxyméthylstarch) était proposé pour la première fois comme excipient pour des formulations contenant des PAs hautement solubles (cas de metformine) (Sakeer *et al.*, 2017a). Les profils de dissolution *in vitro* de metformine en comprimés chargés à 60% montrent une libération soutenue et linéaire du principe actif jusqu'à 8 heures. Ce résultat était perçu comme positif étant donnée la nature extrêmement soluble (300 mg/mL) de la metformine (Sakeer *et al.*, 2017a).

## 2.4 Amidon ampholytique

Un composé ampholytique est un produit portant simultanément des groupements cationiques et des groupements anioniques lui permettant de se comporter comme un acide ou une base selon les conditions chimiques et le pH du milieu. L'amidon ampholytique est modifié par substitution des -OH par des groupes fonctionnels à charge positive (amine) et à charge négative (CM); cela procure une stabilité potentielle aux polymères par liaison ioniques. Les caractéristiques de l'amidon ampholytique varient en fonction des groupes greffés sur la chaîne (Peng, H. *et al.*, 2016), comme l'ammonium quaternaire et CM (Shimei *et al.*, 2006), ammonium quaternaire et succinates (Lekniute *et al.*, 2013), aminoéthyl et CM (Sakeer *et al.*, 2017a) ou ammonium quaternaire et groupements phosphates (Lin *et al.*, 2012; Peng, H. *et al.*, 2016). L'ordre de substitution des groupements sur le polysaccharide (Sakeer *et al.*, 2018) et le degré de substitution (Shimei *et al.*, 2006) influencent aussi la structure et les fonctions du polymère. L'amidon ampholytique est utilisé comme agent floculant pour le traitement des eaux usées par élimination des métaux lourds et des particules colloïdales (Lin *et al.*, 2012; Peng, G. *et al.*, 2008; Peng, H. *et al.*, 2016). Il offre, grâce à son caractère amphotère, un meilleur effet floculant comparé aux amidons anioniques ou non chargés et il se lie efficacement aux matières organiques et inorganiques (Zhu *et al.*, 2012). Ce type de dérivé est aussi utilisé dans le domaine des textiles, papeterie et l'emballage comme agent liant ou produit adhésif (Shimei *et al.*, 2006). Plus récemment, des travaux du laboratoire du professeur Mateescu ont porté sur l'utilisation de ce type d'amidon comme excipient pour les libérations contrôlées de petites molécules hautement solubles (Sakeer *et al.*, 2017a) ou à charge élevée en principe actif (Sakeer *et al.*, 2018; Sakeer *et al.*, 2017a).

## CHAPITRE III

### PRESENTATION DU PROJET

#### 3.1 Concepts du projet

L'amidon est un polymère naturel, biocompatible et biodégradable agréé par la FDA comme excipient pharmaceutique. Ses groupements hydroxyles offrent d'innombrables possibilités de modification (réticulation, substitution), procurant ainsi de nouvelles propriétés aux dérivés selon la nature chimique, la charge, la masse moléculaire des groupements utilisés ainsi que le degré de substitution de l'amidon. Plusieurs études du laboratoire du Professeur Mateescu ont porté sur le carboxyméthyleamidon (CMA) comme excipient pour des systèmes gastro-résistants, à libérations ciblées ou contrôlées en SGF et SIF. Cependant, une fois en SIF, le CMA se déprotone, ce qui provoque l'hydratation de la matrice et la libération du principe actif (PA). Nos études avaient porté sur l'utilisation de d'amidon ampholytique comme excipient pour les libérations contrôlées des petites molécules hautement solubles (Sakeer *et al.*, 2017a) ou à charge élevée en principe actif (Sakeer *et al.*, 2018). Les résultats obtenus avaient montré que l'ordre d'ajout des groupements fonctionnels régulait la structure finale du dérivé. L'amine primaire étant réactionnelle, pouvait interagir avec d'autres groupements aminoéthyles libres afin de former des dendrimères (structures ramifiées) ou des structures à chaînes linéaires (Sakeer *et al.*, 2018). De ce fait, ce projet portera sur la synthèse d'un nouveau dérivé ampholytique de l'amidon : TMACMA portant simultanément un groupement anionique CM et un groupement cationique non réactif TMA. Théoriquement, il serait peu probable d'avoir

des structures secondaires (dendrimériques ou à chaînes linéaires) à partir des groupements triméthylamine non réactifs (Sakeer *et al.*, 2018). Le projet portera aussi sur la synthèse d'un dérivé cationique : TMAA, et d'un dérivé anionique : CMA. Les TMA et CMA peuvent être mélangés directement : TMAA:CMA (DM) ou par pulvérisation « *spray drying* » TMAA-CMA (SD). Les produits obtenus ont été testés comme excipients à libération contrôlée des quatre traceurs : acétaminophène, mesalamine, naproxène et aténolol à charge élevée (60%) et très élevée (80%) en PA. Les profils de libération ont été obtenus par des tests de dissolution *in vitro*.

### 3.2 Objectifs du projet

- Synthèse et caractérisation des différents dérivés d'amidon.
- Etude *in vitro* des temps de libération générés par chaque excipient avec quatre traceurs possédant différentes solubilités en SGF et SIF et l'analyse des profils de libération.
- Evaluation du potentiel de chacun des dérivés pouvant être employé comme excipient à libération contrôlée des agents actifs à haute charge.
- Comparaison des comportements des différents dérivés selon leurs compositions et leurs méthodes de synthèse.
- Observation de l'impact des différents ratios excipient/PA sur le comportement des matrices.

### 3.3 Hypothèses

- La présence simultanée des charges opposées sur les mêmes chaînes ou des chaînes adjacentes, pourrait stabiliser la structure et contrôler la libération des PAs,
- L'organisation des chaînes polysaccharidiques pourrait changer selon la méthode de synthèse et la nature des milieux utilisés sous l'influence des forces électrostatiques.

- Les ratios polymère/PA pourraient influencer le comportement des matrices obtenues.
- Les interactions polymère/PA et polymère/polymère pourraient aussi augmenter la stabilité du complexe et prolonger le temps de libération.

### 3.4 Méthodologie

La première étape fut la synthèse du CMA, du TMA, et du TMACMA en milieu aqueux. Cette étape de gélatinisation en milieu alcalin à partir d'amidon natif (Hylon VII) a été suivie d'une substitution au niveau des -OH par SMCA, GTMAC ou les deux en même temps afin d'obtenir CMA, TMA, ou TMACMA respectivement. Un lavage suivi d'un séchage à l'acétone ont été réalisés pour obtenir des produits finaux poudreux et secs.

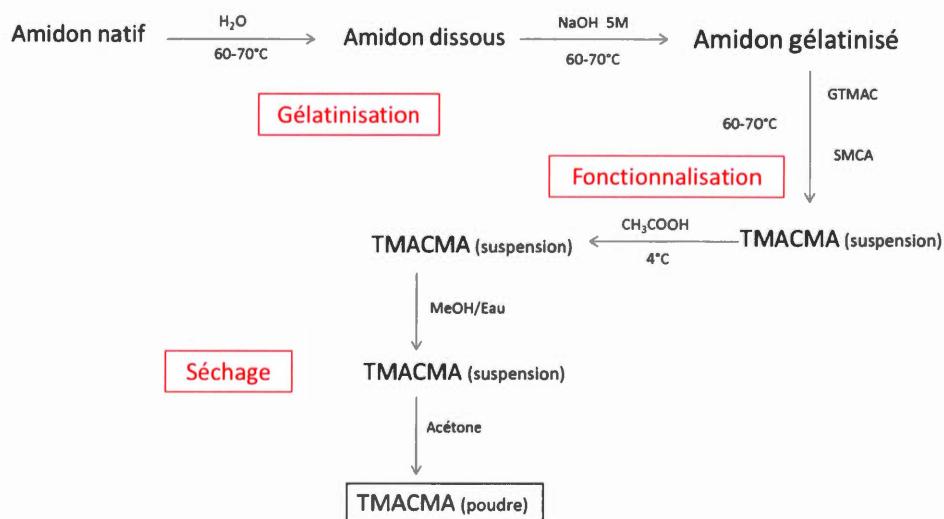


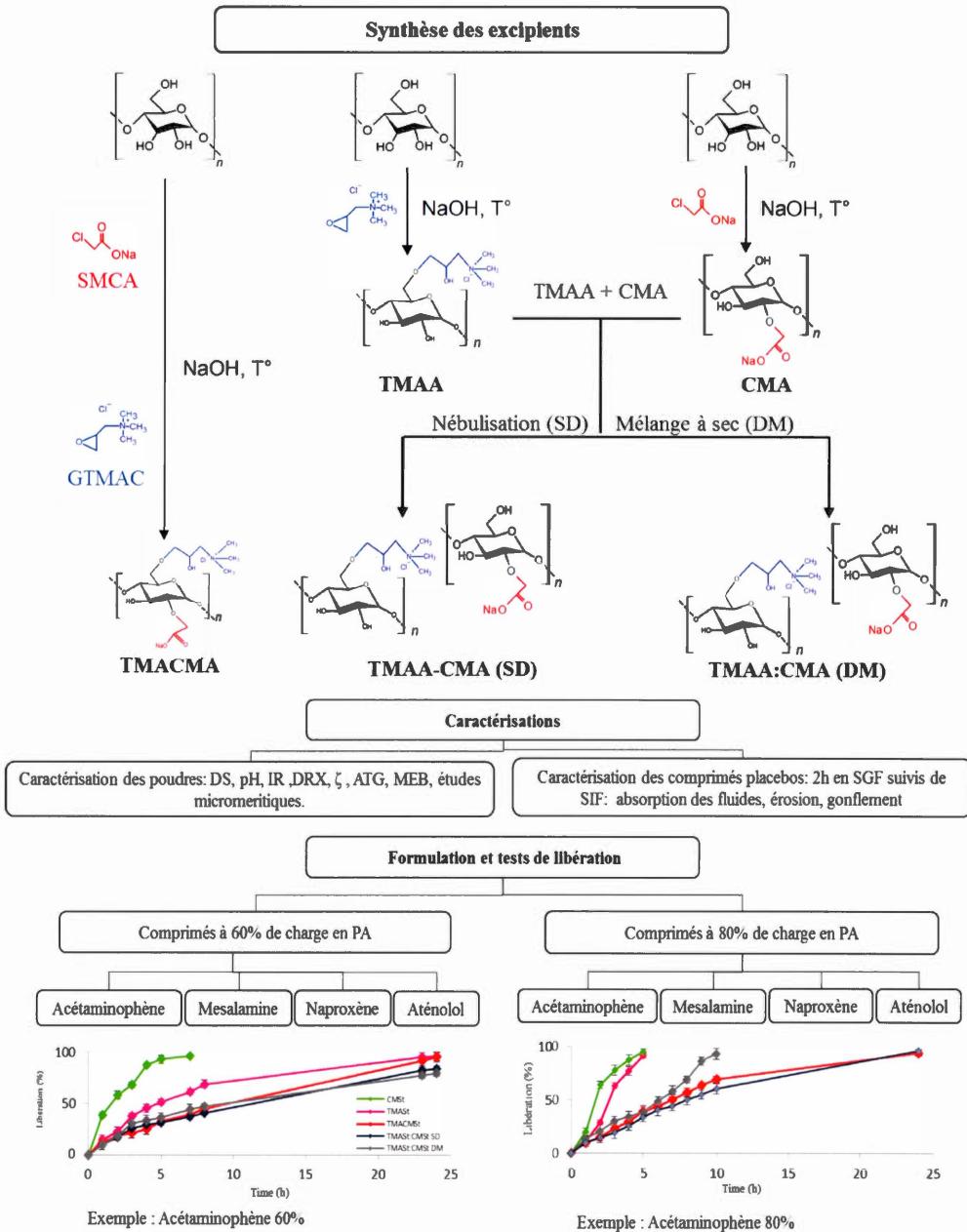
Figure 3.1 Les étapes de synthèse de l'amidon ampholytique : TMACMA.

Afin d'étudier l'impact de la méthode de synthèse d'un polyelectrolyte, deux mélanges de TMA et CMA étaient réalisés. 1/ Des quantités équivalentes de TMA et CMA ont été dissoutes dans l'eau pour être ensuite séchées par pulvérisation « *spray drying* » à haute température pour obtenir le TMAA-CMA (SD). 2/ Des quantités équivalentes de

TMA et CMA ont été directement homogénéisées à sec pour obtenir TMAA:CMA (DM).

Pour réaliser des études de dissolution *in vitro*, quatre traceurs ont été sélectionnés selon leur solubilité et leur classification SCB (Système de Classification Biopharmaceutique) : l'acétaminophène (classe I), le naproxen (classe II), l'aténolol (classe III), et la mésalamine (classe IV). Il y'a un intérêt pour des formulations à libération controlée des analgésiques et des AINS, à cause de leurs effets secondaires si le dosage n'est pas contrôlé. Les AINS partagent globalement les mêmes effets secondaires indésirables qui sont fortement liés à la dose administrée, l'état du malade, la voie d'administration, les produits alimentaires ou médicamenteux associés (Takeuchi et Satoh, 2015). Des comprimés monolithiques ont été obtenus par compression directe des mélanges homogènes de chaque dérivé avec un seul traceur, soit à dose élevée (60%), soit très élevée en PA (80%) pour 40% ou 20% d'excipients respectivement. Des tests de dissolution selon les recommandations USP ont été réalisés ; pour cela, les comprimés ont été immersés durant 2h en SGF suivi d'un transfert direct en SIF.

Les courbes de libération des PAs en fonction du temps ont été obtenues par mesure spectrophotométrique des absorbances. Les profils de libération des différents dérivés et traceurs ont été analysés selon la linéarité du profil, la sensibilité au changement du pH, et le temps de rétention du PA pour estimer le potentiel de chacun des dérivés d'amidon d'être utilisé comme excipient à libération contrôlée des agents actifs.



DS: degré de substitution. IR: Infrarouge. DRX: Diffraction des rayons X.  $\zeta$ : potentiel Zeta. ATG: analyses thermogravimétrique. MEB: microscopie électronique à balayage.

Figure 3.2 Présentation schématique des différentes étapes du projet

## **PARTIE II- SECTION EXPÉRIMENTALE**

## CHAPITRE IV

### COMPOSES D'AMIDON POLYELECTROLYTIQUE UTILISES COMME MATRICES POUR LA LIBERATION CONTROLEE DES MEDICAMENTS

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

Auteur principal: M. Nassim Benyerbah, était responsable de la rédaction du corps du manuscrit et de toutes les parties expérimentales, de toutes les parties principales de l'article, la préparation du protocol, le traitement des résultats et de la recherche bibliographique.

Premier coauteur: Dr. Pompilia Ispas-Szabo, a supervisé le projet et a participé à la la révision du manuscrit.

Deuxième coauteur: Dr. Khaleel Sakeer, a participé à la synthèse des polymères et à la révision du manuscrit.

Troisième coauteur: Pr Daniel Chapdelaine, a participé à la caractérisation et à l'interprétation de certains résultats (degré de substitution).

Quatrième coauteur: Pr Mircea Alexandru Mateescu, directeur du projet, etait chargé de superviser toutes les activités scientifiques et de fournir les instructions requises concernant toutes les parties expérimentales du projet et les interprétations des résultats obtenus.

\* Le manuscrit a été soumis au journal « *Pharmaceutics* ». Il est actuellement en revision.

## Amidon ampholytique et polyelectrolytique comme matrices pour la libération contrôlée des médicaments

Nassim Benyerbah<sup>1,2</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1,2</sup>, Khalil Sakeer<sup>1,2</sup>, Daniel Chapdelaine<sup>1</sup>,  
Mircea Alexandru Mateescu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Département de Chimie, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Succ. A,  
Montréal (Québec) H3C 3P8, Canada

<sup>2</sup> Chaire de recherche sur les dysfonctions entériques “Allerdys” et centres  
CERMO-FC.

### Résumé

Le potentiel des composés polyampholytiques et polyélectrolytiques d'amidon en tant qu'excipients pour la libération contrôlée des principes actifs (PA) a été étudié avec des traceurs différant en terme de solubilité et de perméabilité. L'amidon ampholytique triméthylamine carboxyméthyle (TMACMA) portant simultanément des groupes cationiques triméthylaminehydroxypropyle (TMA) et des groupes carboxyméthyle (CM) anioniques, a été obtenu en une étape par synthèse en milieu aqueux. En outre, les poudres de triméthylamine amidon (TMAA) et de carboxyméthyleamidon (CMA) ont été synthétisées séparément puis homogénéisées à des ratios égaux en phase liquide et séchées par pulvérisation pour obtenir des complexes polyélectrolytiques TMAA-CMA (SD). De même, des quantités égales de poudres de TMAA et de CMA ont été mélangées à sec pour obtenir le TMAA:CMA (DM). Des comprimés monolithiques ont été obtenus par compression directe des mélanges excipient/PA contenant 60% ou 80% de PA. Les tests de dissolution *in vitro* ont montré que les produits, ampholytique (TMACMA) et co-procéssé TMAA-CMA (SD) en présence des traceurs sélectionnés (un de chaque classe du Système de Classification Biopharmaceutique SCB) étaient en mesure de contrôler la libération des PAs même à des teneurs très élevées (80 %). Il était intéressant de noter que quelle que soit la procédure de préparation, les dérivés des matériaux polyampholytiques et polyélectrolytiques d'amidon manifestent des comportements similaires et génèrent une stabilisation des comprimés par des interactions électrostatiques. Il a été conclu que la présence de charges opposées situées à des distances suffisantes pouvait avoir une incidence sur l'organisation des chaînes polymériques et implicitement sur le contrôle de la libération des principes actifs.

**Mots-clés:** amidon polyampholytique, amidon polyélectrolytique, stabilisation électrostatique, teneur élevée, systèmes de libération contrôlée, séchage par pulvérisation.

\* Auteur correspondant : mateescu.m-alexandru@uqam.ca (M.A. Mateescu).

## Ampholytic and Polyelectrolytic starch as matrices for controlled drug delivery

Nassim Benyerbah<sup>1,2</sup>, Pompilia Ispas-Szabo<sup>1,2</sup>, Khalil Sakeer<sup>1,2</sup>, Daniel Chapdelaine<sup>1</sup>, Mircea Alexandru Mateescu<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Chemistry and Pharmaqam Center, Université du Québec à Montréal,  
C.P. 8888, Branch A, Montréal (Québec) H3C 3P8, Canada.

<sup>2</sup> Research Chair in Enteric Dysfonctions “Allerdys” and CERMO-FC Centers.

### Abstract

The potential of the polyampholytic and polyelectrolytic starch compounds as excipients for drug controlled release was investigated using various tracers differing in terms of solubility and permeability. Ampholytic trimethylaminecarboxymethylstarch (TMACMS) simultaneously carrying a trimethylaminehydroxypropyl (TMA) cationic groups and carboxymethyl (CM) anionic groups was obtained in one step synthesis in aqueous media. Also, trimethylaminestarch (TMAS) and carboxymethylstarch (CMS) powders were synthesized separately and then homogenized at equal proportions for co-processing in liquid phase by spray drying (SD) to obtain polyelectrolytic complexes TMAS-CMS (SD). Similarly, equal amounts of TMAS and CMS powders were dry mixed (DM) to obtain TMAS:CMS (DM). Monolithic tablets were obtained by direct compression of excipient/API mixes with 60% or 80% drug loads. The *in vitro* dissolution tests showed that ampholytic (TMACMS) and co-processed TMAS-CMS (SD) with selected tracers (one from each class of Biopharmaceutical Classification System - BCS), were able to control the release even at very high loading (80%). In conclusion, irrespective of preparation procedure, polyampholytic and polyelectrolytic starch materials exhibited similar behaviours and generated stabilisation of tablets by electrostatic interactions. The presence of opposite charges located at adequate distances may impact the polymeric chain organisation, their self-assembling and, implicitly the control of drug release.

**Keywords:** polyampholytic starch, polyelectrolytic starch, electrostatic stabilization, high drug loading, drug controlled release, spray drying.

#### 4.1 Introduction

Oral solid dosages (i.e. tablets, capsules) have always been among the most studied galenic forms in pharmaceutical development. The interest in modifying their release led to sustained investigation efforts aimed to develop new technologies, formulas or devices to control the release of the assets. The expectations and, in a large measure, the achievements of drug delivery systems (DDS) were to optimize the treatments by administering precise doses (avoid under/overdose) (Park, S. *et al.*, 2018), targeting the areas affected and improving the patient compliance (Ispas-Szabo *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2018). Orally Controlled Release Systems (OCRS) can be obtained by: osmotic delivery systems (Keraliya *et al.*, 2012; Missaghi *et al.*, 2014), porous structured materials (Son *et al.*, 2011), tablets coating (Maroni, A. *et al.*, 2013; Yang, Y. *et al.*, 2018), and controlled release from monolithic matrices (using functional excipients )(Mateescu *et al.*, 2015). Such excipients may be synthetic (i.e. pycarbonates, polyesters, polyamides) (Debotton et Dahan, 2017), or based on natural products (i.e. chitosan, cellulose, starch) able to modify the time of release of active ingredients in the digestive tract (Hong, Y. *et al.*, 2016). Starch is one of the most studied biopolymers known for its biocompatibility, biodegradability and abundant sources as well as for the different possibilities of modification (i.e. substitution, reticulation) offered by its hydroxyl groups (-OH) (Minaev *et al.*, 2016). Starch and its derivatives are largely used as excipients for dry galenic formulation (Debotton et Dahan, 2017). Starch was often modified in order to modulate its physicochemical properties. Crosslinked starch (Contramid®) was commercialized either as matrix for controlled release of active pharmaceutical agent (API) (Mateescu *et al.*, 1995) and, at different crosslinking degrees , as binder and disintegrant (Liamid®) (Cartilier *et al.*, 1997). Despite their similar backbone, their respective degrees of crosslinking influence the organization of chains conducting to different behavior in the drug release (Ispas-Szabo *et al.*, 2000). Functionalized starch by substitution of -OH as starch acetate (SAC), aminoethyl starch (AES) or carboxymethyl starch (CMS) excipients

have different features depending on their chemical nature (Calinescu *et al.*, 2005; Ispas-Szabo *et al.*, 2016). The CMS obtained by etherification of high amylose starch with sodium monochloroacetate, has been extensively studied for biomedical applications (Blemur *et al.*, 2016; Calinescu *et al.*, 2012; Friciu *et al.*, 2013; Nabais et Leclair, 2014; Wang, X. *et al.*, 2017b). Its self-assembling by non-covalent inter and intra-molecular ionic and hydrogen interactions between the carbohydrates chains conducted to new structural conformations and more complex organization (Mateescu *et al.*, 2015). CMS has a pH-dependent character that offers protection by protonation/deprotonation phenomena (Ispas-Szabo *et al.*, 2016). This behavior allowed the use of CMS as matrix for bioactive agents (Ispas-Szabo *et al.*, 2016) such as enzymes (Calinescu *et al.*, 2012; Massicotte *et al.*, 2008), microorganisms (Calinescu *et al.*, 2005) and probiotics for intestinal delivery (Calinescu et Mateescu, 2008). Generally, the starch derivatives can be synthesized either in organic or inorganic media. The drying step can be carried out by precipitation (methanol/acetone), lyophilization or spray drying. A correlation between the DS, the drying method and the physicochemical properties of the CMS it was previously shown (Lemieux *et al.*, 2010). The CMS was co-processed with other polymers such as chitosan (Subramanian *et al.*, 2014) to generate polyelectrolyte complexes (PEC). Differently to PECs, ampholytic starch derivatives are simultaneously carrying two types of functional groups of opposite charges on the carbohydrate chains (Sakeer *et al.*, 2018). There are few applications of such derivatives as flocculating agents for water treatment (Lin *et al.*, 2012; Peng, H. *et al.*, 2016) or in textile and paper industry (Peng, H. *et al.*, 2016). Ampholytic starch was described with quaternary ammonium and phosphate groups (Peng, H. *et al.*, 2016) or carboxymethyl groups (Shimei *et al.*, 2006), or succinate (Lekniute *et al.*, 2013). Another starch material with aminoethyl and carboxymethyl groups (CMAESt) was apparently the first ampholytic starch as excipient in drug controlled release systems (Sakeer *et al.*, 2018; Sakeer *et al.*, 2017a). From monolithic tablets with 60% Active Principle Ingredient (API) loading, the results showed a good impact of ionic interactions in stabilization of polysaccharide

chains. In the present study, a new form of ampholytic starch was investigated. This new derivative carries quaternary amine and carboxymethyl groups. It was synthesized by the simultaneous starch treatment with glycidyltrimethylammonium chloride and sodium chloroacetate to obtain trimethylamine hydroxypropyl carboxymethyl starch (TMACMS). Separately, starch derivatives carrying only cationic groups: trimethylamine hydroxypropyl starch (TMAS) or anionic groups: carboxymethyl starch (CMS) were also synthesized. For a better understanding of mechanisms governing the drug release from these new types of starch derivatives, the impact of physical processing into the drug release of selected active molecules was also explored. Thus, the anionic and the cationic starch derivatives were mixed by two different methods to obtain polyelectrolytes: 1) co-processing by spray drying (SD) of the aqueous mixtures of TMAS and CMS to obtain polyelectrolyte complexes abbreviated as TMA-CMS (SD) or 2) by dry mixture (DM) of powders of each compound at room temperature, abbreviated as TMA-CMS (DM). All derivatives were structurally characterized by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), X-ray diffraction (DRX), thermogravimetric analysis (TGA), scanning electron microscopy (SEM) as well as by micromeritic studies. All new products were used as excipients to prepare monolithic tablets with model active molecules having different solubilities and ionic charges.

#### 4.2 Materials

High amylose starch (Hylon VII) was supplied by National Starch/ Ingredion (Westchester, IL, USA). Mesalamine (pharmaceutical grade) was obtained from PharmaZell (Raubling, Germany). Naproxen and atenolol were purchased from Sigma-Aldrich (Canada). Sodium monochloroacetate (SMCA) was from Sigma-Aldrich (Germany). Glycidyltrimethylammonium chloride (GTMAC) and acetaminophen were from Sigma-Aldrich (USA).

#### 4.3 Methods

##### Synthesis of starch derivatives

The aim of synthesis was to obtain three excipients based on modified starch: two polyelectrolyte starch derivatives carrying carboxylic groups  $-COO^-$  (CMS) with negative overall charges or carrying quaternary amine groups  $-N^+(CH_3)_3$  (TMAS) with positive overall charges. The polyelectrolytic complexes were produced by i) co-processing by spray drying (SD). ii) homogenization of powders by direct physical mixing (DM). ii) the third product was: TMACMS, an ampholytic starch carrying carboxylic groups (CM) and quaternary amine groups (TMA) on the same starch backbone synthesized in one step chemical process by adding simultaneously SMCA and GTMAC to the gelatinized starch. To synthesize polyelectrolytic complexes, CMS and TMAS were prepared separately using almost the same steps as in previous described by Sakeer et al (Sakeer *et al.*, 2017b), slightly modified as follows: 25 g of native starch (Hylon VII) was dispersed in 200 mL of distilled water under stirring and 300 mL of 5M NaOH were added continuing the stirring for 1h to obtain a gelatinized starch. Then an amount of 18.75 g of SMCA, rapidly dissolved in a minimal water volume was added to prepare CMS. In the same conditions, a volume of 24.4 mL of GTMAC was added to the gelatinized starch to obtain TMAS. The reaction was continued under stirring at 60 °C for 1h. In both cases the solution was cooled down rapidly until 4 °C and the pH was decreased until 7 with glacial acetic acid. Each modified starch was precipitated with a solution methanol:distilled water (70:30 v/v) and washed by decantation with the same solution until the preparation had a conductivity lower than 100  $\mu$ S/cm. The slurry was then washed by filtration with pure acetone for final drying under vacuum. The obtained CMS and TMAS powders were left overnight at room temperature and then sieved to retain particles smaller 300  $\mu$ m. Ampholytic starch TMACMS was prepared by the chemical process as previously described by Sakeer et al (Sakeer *et al.*, 2017a). Briefly, same amounts of SMCA and

GTMAC were simultaneously added to gelatinized starch under continuous stirring at 60 -70 °C for 1h. The solution was cooled down and pH was decreased to 7 with glacial acetic acid. Modified starch was precipitated with a solution methanol:distilled water (70:30 v/v) and washed by decantation with the same solution until the preparation had a conductivity lower than 100 µS/cm. The slurry was then washed by filtration with pure acetone for final drying under vacuum. The powder was left overnight at room temperature and only particles smaller than 300 µm were retained after sieving. The polyelectrolyte TMAS-CMS (SD) was obtained separately: 10 g of CMS were completely dissolved in 1L distilled water (solution 1). Separately, 10 g of TMAS was completely dissolved in 1L distilled water (solution 2). Solutions 1 and 2 were mixed and spray drayed (Buchi mini spray dryer B-290, Switzerland) at 200 °C. The obtained TMAS-CMS (SD) powder was left overnight in an oven at 40 °C to eliminate all humidity. The polyelectrolyte blend TMAS:CMS (DM) was obtained by direct mixing of powders (50:50 w/w) for homogenization.

#### Degree of substitution (DS)

Degree of substitution at level of -OH by carboxymethyl group ( $DS_{coo-}$ ) of CMS was determined by back titration. An amount of 200 mg of polymer was solubilized in 20 mL of NaOH (0.05 M) and the excess of NaOH (unreacted with carboxylic groups) was titrated by HCl (0.05 M). Color change of indicator phenolphthalein was determined as the equivalence point. 20 mL of NaOH (0.05 M) was also titrated and used as blank. All the titrations were done in triplicate. The  $DS_{coo-}$  was obtained by calculating the amount of carboxylic groups as follows:

$$X = (V_b - V_s) \times C_{HCl}$$

$$DS_{coo-} = \frac{162X}{m - 58X}$$

Where  $V_b$  and  $V_s$  are the volumes (L) of HCl (0.05 M) for titration of blank and samples respectively;  $C_{HCl}$  is the concentration of HCl (mol/L); 162 (g/mol) molecular weight of one glucose unit; 58 (g/mol) is the increase in the weight of one glucose unit after substitution of hydroxyl group by carboxymethyl group, and  $m$  (g): mass of dry powders. The degree of substitution of hydroxyl group by trimethyl amine group (DS  $N^+(CH_3)_3$ ) of TMAS and TMACMS were calculated by elemental analysis. Results were given by percentage of molecular mass for each element.

#### Fourier transform infrared (FT-IR)

FTIR spectra of Hylon VII, CMS, TMAS, and polyelectrolytic starch powders were recorded by a Thermo Scientific, Nicolet 6700 / Smart iTR (Madison, WI, USA) using a diamond crystal with 64 scans/ min at  $4\text{ cm}^{-1}$  resolution in the spectral region (4000-500  $\text{cm}^{-1}$ ).

#### X-ray Diffraction

The polymorphism of powders was evaluated by X-ray diffractometry using a Bruker, D8 Advance, (Munich, Germany) device. A Cobalt cathode ( $\text{Cu K}\alpha$ ) was used in reflectance mode with wavelength of 1.789 Å and a scanning rate of 0.05 °/min. All patterns were analyzed through a  $2\theta$  range of 5-50 degrees. EVA software was used for X-ray diffraction spectra treatments.

#### Zeta potential ( $\zeta$ )

The zeta potential of polymers was measured by ZetaPlus/Bl-PALS (Brookhaven Instrument Corp, Holtsville, NY, USA). Polymers were dissolved (0.01 % w/v) in nonopure water. The analysis of particle surface charges was carried-out at 25 °C using 1 mL of suspension. Measurements were done in triplicates.

### pH determination

A Cole-Parmer PC200S pH/mV/Cond (Chicago, IL, USA) was used to measure the pH of sample suspension (polymer: nanopure water 2.5% w/v) at room temperature. All measurements were done in triplicates.

### Scanning electron microscopy (SEM)

The morphology of powders of native starch (Hylon VII) and of starch derivatives was investigated using a Hitachi (S-4300SE/N) scanning electron microscopy with variable pressure (Hitachi High Technologies America, Pleasanton, CA, USA). Powder samples were put on a support covered by a double-sided carbon tape and sputter-coated with gold. The magnification was 100x and 1000x for all samples using.

### Thermogravimetric analyses (TGA)

The weight loss depending on the variation of temperature was measured by a Q500 TGA Thermogravimeter (TA Instruments, DE, USA) between 30 and 900 °C at 10 °C / min in a nitrogen atmosphere at 100 mL / min, using a small amount of powders filed on a platinum crucible. The analysis was carried out until the complete disappearance of the samples. “TRIOS” software was used for treatment of results.

### Micromeritic analyses

Micrometric tests are used to study physicochemical properties of the obtained powders; they have been carried out according to USP recommendations using a Tap Density Tester (Vankel, Varian, NC, USA). The powders characteristics were studied using <1174> USP (USP, 2015) method and the following parameters:

angle of repose ( $\Theta$ ) using the fixed funnel method (Ileleji et Zhou, 2008) and it was calculated using the equation:

$$\theta = \tan^{-1} \left( \frac{h}{r} \right)$$

Where  $h$ , height;  $r$ , ray.

The powder was poured into a funnel fixed 2 cm from a flat surface. The passage of the powder formed a cone. “ $r$ ” is the ray of the base and “ $h$ ” is the height of the cone (2 cm). Compressibility index (CI) and Hausner’s factor (HF) values were obtained according to the < 616 > USP (USP, 2015) by measuring tapped density ( $\rho_{tab}$ ) and bulk density ( $\rho_{bulk}$ ). Briefly, a known mass of powder is placed in a graduated cylinder, the corresponding volume (mL) is noted. The ratio mass (g) volume (mL) is called bulk density which represents the density of a powder including the spaces between the particles. Tapped density was obtained by tapping the same cylinder using Tap Density Tester (Vankel, Varian, NC, USA) until having a new volume of powder (elimination of space between the particles). Tapped density was represented by ratio mass (g):volume (mL). CI and HF was calculated as follows:

$$CI = \frac{\rho_{tab} - \rho_{bulk}}{\rho_{tab}} \times 100$$

$$HF = \frac{\rho_{tab}}{\rho_{bulk}}$$

### Preparation of tablets

To determine swelling, fluid uptake and erosion, drug-free tablets (placebos) were prepared. CMS, TMAS, and polyelectrolytic or ampholytic starch powders were directly compressed ( $2.5 \text{ T/cm}^2$ ) using flat-faced punches with 12.9 mm diameter (Carver hydraulic press, C 3912 Hydraulic Cylinder. Wabash, IN, USA) to obtain monolithic round tablets. For *in vitro* dissolution assays, the same excipients were used to prepare 12.9 mm diameter monolithic tablets with two different loadings. For acetaminophen or naproxen, 500 mg of API powders were homogenized with 333 mg or 125 mg of powdered polymers to obtain respectively 60% and 80% API loaded tablets. For mesalamine, 400 mg of API were homogenously mixed with 267 mg or 100 mg of polymers to obtain respectively 60% and 80% API loaded tablets. For atenolol, 9 mm flat-faced punch was used because of the small amount of powder: 200 mg of API powders were homogenized with 133 mg or 50 mg of powdered polymers to obtain respectively 60% and 80% atenolol loaded tablets.

### Determination of swelling, fluid uptake and erosion

Drug-free tablets have been used to investigate the behavior of starch compounds in simulated biological fluids: simulated gastric fluid (SGF) and simulated intestinal fluid (SIF). First, dry tablets were weighed ( $W_1$ ) and their diameter and thickness were measured. Then they were immersed in 40 mL of SGF (pH 1.2) and submitted to rotation at 50 rpm (Glas-Col rotator, Terre Haute, IN, USA) for 2h. The tablets were then transferred in 40 mL SIF (pH 6.8) and submitted to rotation at 50 rpm. After every 2h, tablets were withdrawn and weighed at time  $t$  ( $W_t$ ), diameters and thickness were also measured. Finally, tablets were placed in an oven at 40 °C for 48h to obtain completely dry tablets ( $W_f$ ).

$$\text{Fluid uptake equation: } \% \text{ Weight change} = \frac{W_t - W_1}{W_1} \times 100$$

$$\text{Degree of erosion equation: } \% \text{ Erosion} = \frac{W_1 - W_f}{W_1} \times 100$$

Where  $W_1$ , weight of dry tablets;  $W_t$ , weight of tablets at time  $t$ ;  $W_f$ , final weight of tablets.

#### *In vitro* dissolution tests

*In vitro* drug release tests have been done following USP requirements for all active agents using a Distek dissolution system 2100A (Markham, On, Ca) as USP paddle apparatus II. Acetaminophen tablets (60% and 80 % loading) were immersed in 900 mL SGF at 50 rpm for 2h and then transferred in 900 mL SIF at 50 rpm. At a predetermined sampling interval (1h), volumes of 3 mL were withdrawn and filtered before spectrophotometric reading at  $\lambda_{243\text{nm}}$ . Mesalamine tablets (60% and 80 % loading) were immersed in 500 mL SGF at 100 rpm for 2h and then transferred in 900 mL SIF at 50 rpm. At a predetermined sampling interval, volumes of 3 mL were withdrawn and filtered before spectrophotometric reading in SGF at  $\lambda_{300\text{nm}}$  and in SIF at  $\lambda_{330\text{nm}}$ . Naproxen and atenolol tablets (60% and 80 % loading) were immersed in 900 mL SGF at 50 rpm for 2h and then transferred in 900 mL SIF at 50 rpm. At a predetermined sampling interval, volumes of 3 mL were withdrawn and filtered before spectrophotometric reading in SGF at  $\lambda_{224\text{nm}}$  for naproxen and  $\lambda_{225\text{nm}}$  for atenolol, and in SIF at  $\lambda_{232\text{ nm}}$  for naproxen and  $\lambda_{225\text{nm}}$  for atenolol. For each analysis, volumes taken were immediately replaced. After each sampling, an equivalent volume (3mL) of dissolution medium was added to the dissolution cell. Standard curves of each drug were used to determine the concentrations of released drugs.

#### 4.4 Results

##### Structural properties

The degree of substitution (DS), which represents the average number of hydroxyl groups substituted with anionic functional groups ( $DS_{coo^-}$ ) or with cationic groups ( $DS_N^+(CH_3)_3$ ) per glucose unit, was determined by back titration and elemental analysis. The  $DS_{coo^-}$  was 0.113 for CMS and 0.097 for TMACMS. The  $DS_N^+(CH_3)_3$  was 0.195 for TMAS and 0.160 for TMACMS. Solutions of 2.5 % in distilled water were prepared for the measurement of pH, the results obtained were: 6.70 for CMS, 7.01 for TMAS, 7.24 for TMACMS, 6.76 for TMAS-CMS (SD), and 7.11 for TMAS:CMS (DM). The zeta potential ( $\zeta$ ) for CMS was  $\zeta = -36.44$  mV and for TMAS was  $\zeta = +30.20$  mV. The bifunctional starch TMACMS had  $\zeta = +17.26$  mV. The zeta potential of TMAS-CMS (SD) and of TMAS:CMS (DM) was -26.28 mV and -32.42 mV respectively.

##### Fourier transform infrared (FT-IR)

The FTIR of CMS is characterized by two specific bands at 1589 and 1415  $cm^{-1}$  (Figure 4.1). For TMAS, a new band at 1553  $cm^{-1}$  and a shoulder at 1476  $cm^{-1}$  are detected compared with FTIR spectrum of Hylon VII. Bands at 3331  $cm^{-1}$ , 2980  $cm^{-1}$ , 1089  $cm^{-1}$  and at 1000  $cm^{-1}$  were common for native starch and all derivatives. The FTIR of amphotolytic starch TMACMS spectrum shows bands at 1553  $cm^{-1}$  and at 1415  $cm^{-1}$  (Figure 4.1).

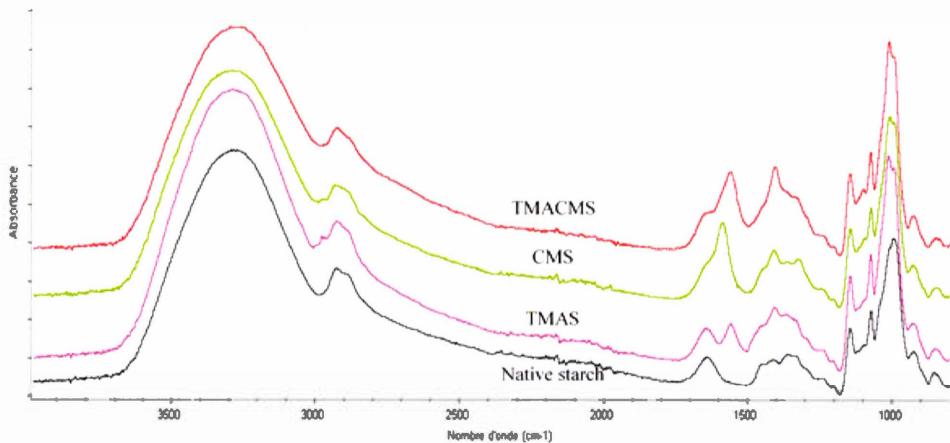


Figure 4.1: FTIR spectra of native starch (black), TMAS (pink), CMS (green) and of TMACMS (red).

### X-ray diffraction analysis

The X-ray diffraction carried out on powders of Hylon VII and of obtained starch compounds are shown on figure 4.2. Hylon VII presents peaks at 17.09°, 22.13°, 23.52°, 24.08°, 12.9°, and at 19.89°. The spectra of TMAS, CMS, TMACMS derivatives and of compounds TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) showed only two broader major peaks at 12.91°, 19.89°.

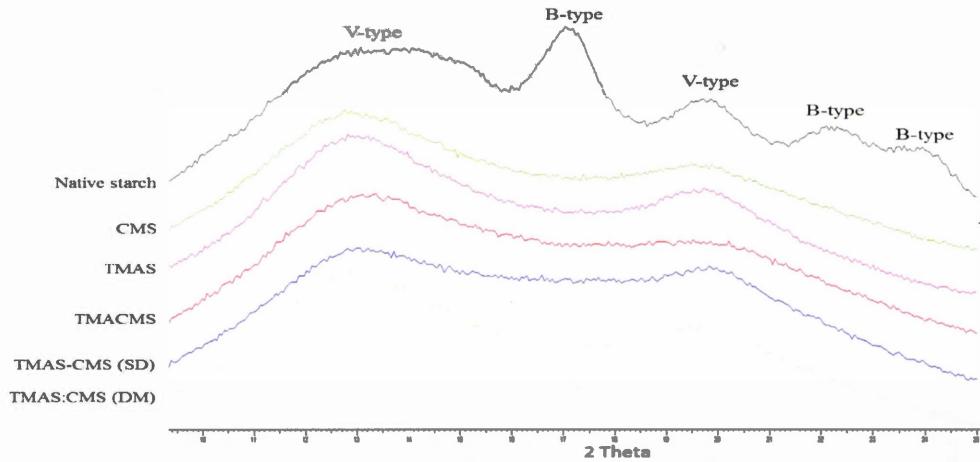


Figure 4.2: X-ray diffraction patterns of native starch (Hylon VII), and of CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) starch products.

#### Thermogravimetric analyses (TGA)

The thermal decomposition of native starch and of its derivatives was studied by thermogravimetric analysis (Figure 4.3) in range of 30-700 °C. A first limited loss of mass between 60-120 °C was observed for all samples. The second sharp decomposition was found below 350 °C followed by the last stage between 350-500 °C. Native starch exhibited the highest decomposition temperature (TD) 327 °C while CMS (287 °C), TMACMS (291 °C), TMAS-CMS (SD) (287 °C) and TMAS:CMS (DM) (292 °C) display neighboring TD.

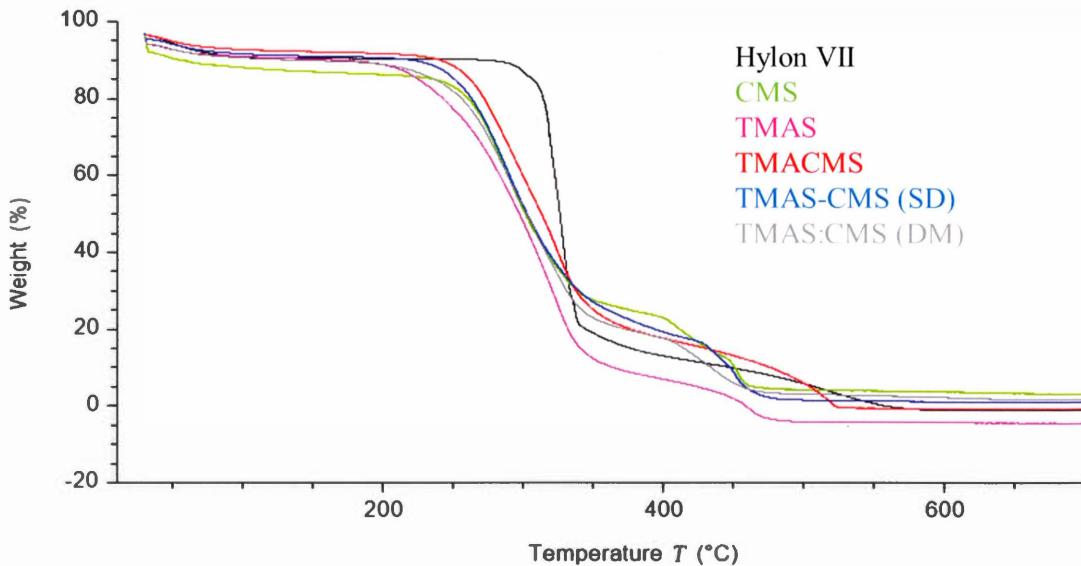


Figure 4.3: Thermogravimetric patterns of Hylon VII , CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM).

### Scanning electron microscopy (SEM)

Morphologies of native starch and of compounds were investigated by scanning electron microscopy (SEM) at three magnifications and some significant differences were observed (Figure 4.4). The native starch is formed by well distinct smooth granules of different sizes in irregular round or oval shapes. Differently, CMS, TMAS, TMACMS and TMAS:CMS (DM) have similar structures forming aggregates with a homogeneous overall appearance. The TMAS-CMS (SD) particles are multi-concave spheres of 1-10  $\mu\text{m}$  with a smooth surface and are well distinct clusters compared to the other derivatives.

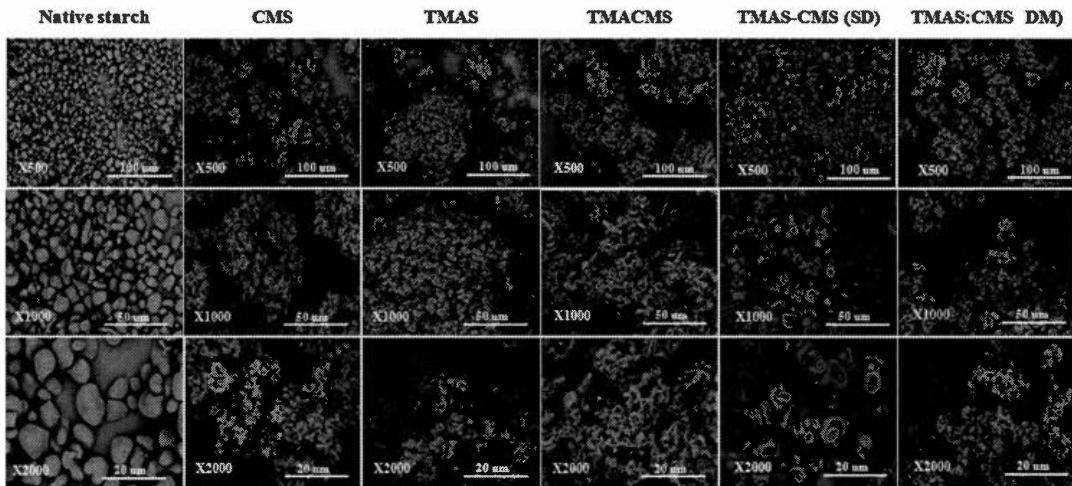


Figure 4.4: Scanning electron microscopy images of native starch, CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) at magnifications x500, x1000 and x2000.

### Micromeritic analyses

Considering that the new derivatives are proposed as excipients for monolithic tablets, it was useful to evaluate micromeritic properties (Table 4.1): Hausner factor (HF), compressibility index (CI), and angle of repose ( $\theta$ ), which are directly related with flowability of powders. These parameters are dependent on the size, shape and rugosity of the grain surface (Sakeer *et al.*, 2018). The angle of repose, also called the angle of friction, was found between 27-38.2 ° for all derivatives. TMAS-CMS (SD) had the greatest angle of repose 38.2°. HF was between 1.2-1.4 for all compounds and CI was between 9.5 and 30.5.

Table 4.1: Micromeritic properties of starch derivatives

<i>Polymers</i>	<i>HF</i>	<i>CI (%)</i>	<i>θ (°)</i>
CMS	1.3	26.3	27
TMAS	1.4	30.5	31.7
TMACMS	1.2	9.5	29.5
TMAS-CMS (SD)	1.3	21	38.2
TMAS:CMS (DM)	1.3	28	30.5

### Fluid uptake, swelling and erosion

Placebo tablets were prepared by direct compression of TMAS, CMS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) powders at 2.5 T/cm<sup>2</sup>. The tablets were emerged in 40 mL of SGF for 2 hours and then transferred to 40 mL of SIF for 2 hours (total: 2h SGF + 2h SIF) and for 4 hours (total: 2h SGF + 4h SIF), and results are shown in Figure 4.5. The CMS tablets, after 2h in SGF, were eroded at 73 % which resulted in a decrease of tablet's diameter (-11 %) and thickness (-27 %) without fluid absorption (Figure 4.6). After transfer to SIF, a rapid erosion was observed with a loss of weight (97.7 %) after 4h and drastically size decreased (diameter -86.5% and thickness -93.2%). The tablet was completely disintegrated after 6h. TMAS displays the most important fluid absorption compared to other derivatives. This phenomenon was pH-independent. After 2h in SGF the fluid absorption (weight gain) was 305.6% with bidirectional swelling (diameter +64.1 % and thickness +50.8 %).

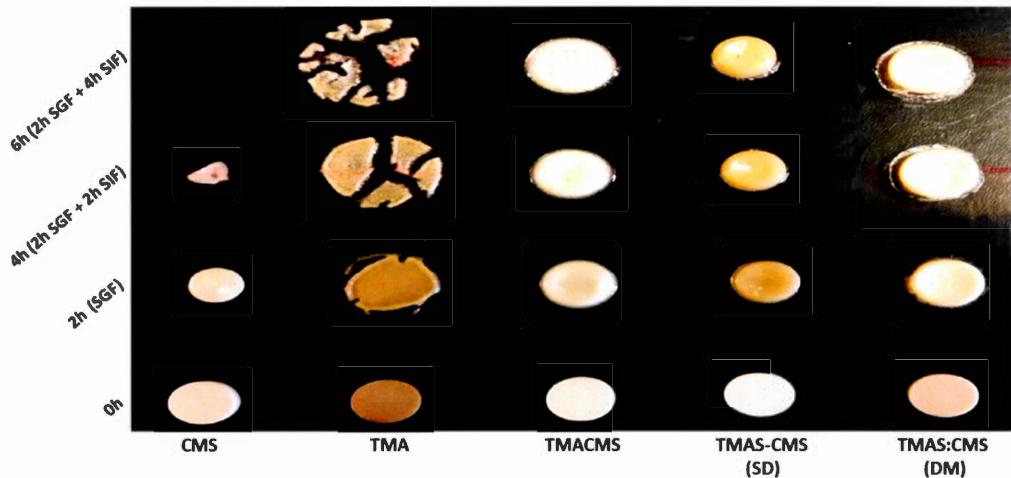


Figure 4.5: Photographs of placebo tablets of CMS, TMA, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) at 0h (dried), 2h in SGF, 4h (2h SGF + 2h SIF) and 6h (2h SGF + 4h SIF).

After transferring to SIF, the swelling continues unaffected by pH change, and the tablet had burst after a massive fluid uptake (+482.5 % after 4h and +631.6 % after 6h). The TMACMS had a fluid uptake of 275.4 % after 2h in SGF with diameter +23.1 % and thickness +34.6 %, swelling and minor erosion (-8.3 %). The amphotolytic starch TMACMS allowed a good stability of weight and shape after transfer to SIF, with moderate increase of diameter (+41.3 %), thickness (+39.6 %) and with a limited erosion (-20.1 %) after 6h which reflects an independent pH behavior (Figure 4.6). TMAS-CMS (SD) had the best stability in both SGF and SIF media with diameter had remained stable during the 6 h of experience. The diameter was 204.4 % after 2h in SFG and showed no significant change after SIF immersion

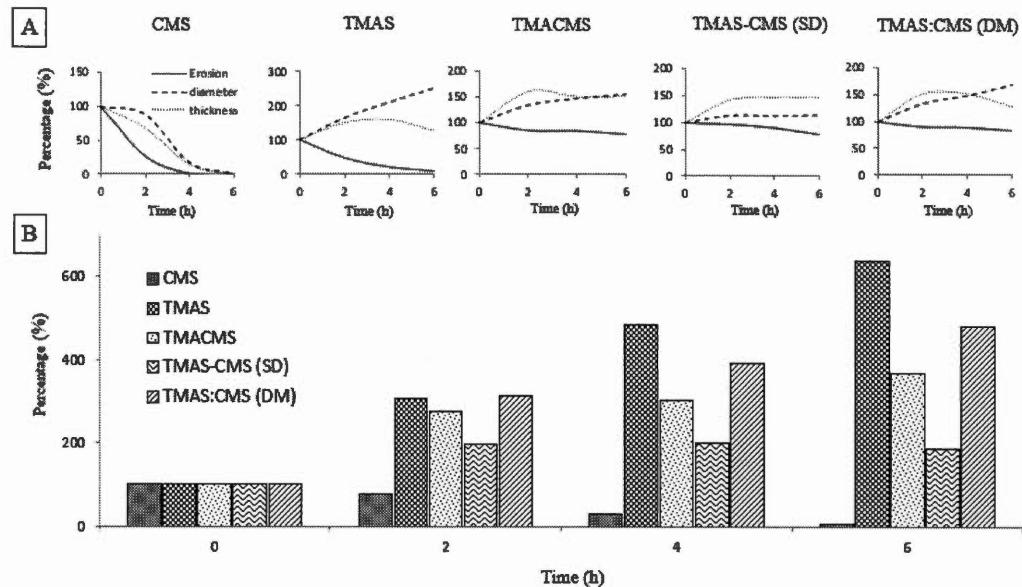


Figure 4.6: (A) Erosion, diameter, and thickness changes of placebo tablets of CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) at 0h (dried), 2h in SGF, 4h (2h SGF + 2h SIF) and 6h (2h SGF + 4h SIF). (B) fluid uptake of placebo tablets of CMS, TMAS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) at 0h (dried), 2h in SGF, 4h (2h SGF + 2h SIF) and 6h (2h SGF + 4h SIF).

Absorption of fluids was proportional to changes in diameter of TMAS-CMS (SD) tablet with +198.2% practically stable for 6h and an erosion of -21.3 % after 6h. TMAS:CMS (DM) showed a gain of weight 307%, of diameter (+24.9 %) and of thickness (+46.4 %) after 2h in SGF. In SIF, a fluid absorption of 477.6 % at 6h with diameters (+40.1 %) and thickness (+41.6%) stability was observed (Figure 4.6). TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) ensured tablet integrity after 6h (2h SGF + 4h SIF). In SGF, a rapid swelling was found but once in SIF, TMACMS and TMAS-CMS (SD) display a better stability than TMAS, CMS and TMAS:CMS (DM).

### *In vitro* dissolution assays

In order to study the release profiles afforded by the new polyelectrolyte excipients, four APIs (tracers) were selected (one for each BCS class) according to their physicochemical properties. Acetaminophen (class I BCS) has a low sensitivity to the ionic strengths of the medium and pH variations (same solubility in SGF and SIF: 20.3 mg / mL) (Lemieux, 2012; Sakeer *et al.*, 2018). Mesalamine (5-Aminosalicylic acid) is a monohydroxybenzoic acid (class IV BCS) carrying an amine in position 5, procuring a zwitterionic nature and an amphoteric behavior with three pKa values: 2.09, 5.26 and 13.64. It is more soluble in SGF (18.2 mg / mL) than in SIF (8.4 mg / mL) (Friciu *et al.*, 2013). Naproxen (class II BCS) is a chiral molecule derived from propionic acid having a pKa 4.15 (Kasten *et al.*, 2018). Atenolol (class III BCS) is an isopropylamino-propanol derivative with a pKa 9.6. Monolithic tablets were obtained by direct compression after mixing powders of TMAS, CMS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) or TMAS:CMS (DM) polymers, and one of the tracers. High loaded (60% API: 40% polymer) and very high loaded (80% API:20% polymer) tablets were obtained. These tablets were dipped in SGF for 2 hours at 37 °C under controlled rotation with sampling for quantification of drug concentration at every 1h. Then the tablets were transferred in SIF at 37 °C. The obtained results are shown in Figure 4.7. The dissolution profiles of acetaminophen from 60% tablets showed that TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) prolong API release up to 24h with 91%, 82% and 80% release respectively (Figure 4.7). However, TMACMS was the only polymer exhibiting pH-independent behavior and a linear sustained release profile in SGF and SIF. Differently, the CMS and TMAS were not able to extend the release and to provide linear profiles. For mesalamine (60%), all polymeric excipients, except TMAS, provided a gastro-protection in SGF with less than 10% release of API (Figure 4.7). Once in SIF, only TMACMS and TMAS-CMS (SD) allowed linear profiles and mesalamine controlled release with 71% and 77% respectively after 24h. TMAS:CMS (DM) showed a faster release of mesalamine in SIF. For naproxen 60% all the polymers

except CMS showed two stages of release: first, a limited release in SGF (8-17%) from 0h to 2h followed by a controlled release in SIF (Figure 4.7). TMAS shows a complete release after 24h, which was not the case for TMACMS (76.5%), TMAS-CMS (SD) (72%) and TMAS:CMS (DM) (80%). Atenolol 60 % was completely released between 5h and 8h with the different excipients. In order to explore the limits of the novel polymeric excipients and to understand the polymer-polymer and eventuality of API-polymer interactions, dissolution tests were carried out under the same conditions using very high loaded tablets (80% API and 20% excipient). The release profiles are shown in Figure 4.7. Despite the very high loading (acetaminophen 80%) TMACMS, TMAS-CMS (SD) displayed similar stable profiles, ensuring controlled release up to 24 hours: 92% and 95% respectively (Figure 4.7). Furthermore, the TMACMS, and TMAS-CMS (SD) tablets with mesalamine 80% showed similar profiles to those of acetaminophen with complete release after approximately 24h (Figure 4.7), whereas the CMS, TMAS and TMAS:CMS (DM) presented complete release at 7h, 6h, and 10h respectively. For naproxen, 80% TMACMS and TMAS-CMS (SD) presented nearly identical profiles in SGF and SIF. Differently, TMAS:CMS (DM) and TMAS allowed a faster release in SIF with 73% and 76.5% of drug released after 8h. A complete release of the naproxen was observed with CMS after 5h (Figure 4.7). Release profiles of atenolol 80 % showed a faster release compared to other APIs. Only TMACMS and TMAS-CMS (SD) were able to extend the release until 6h.

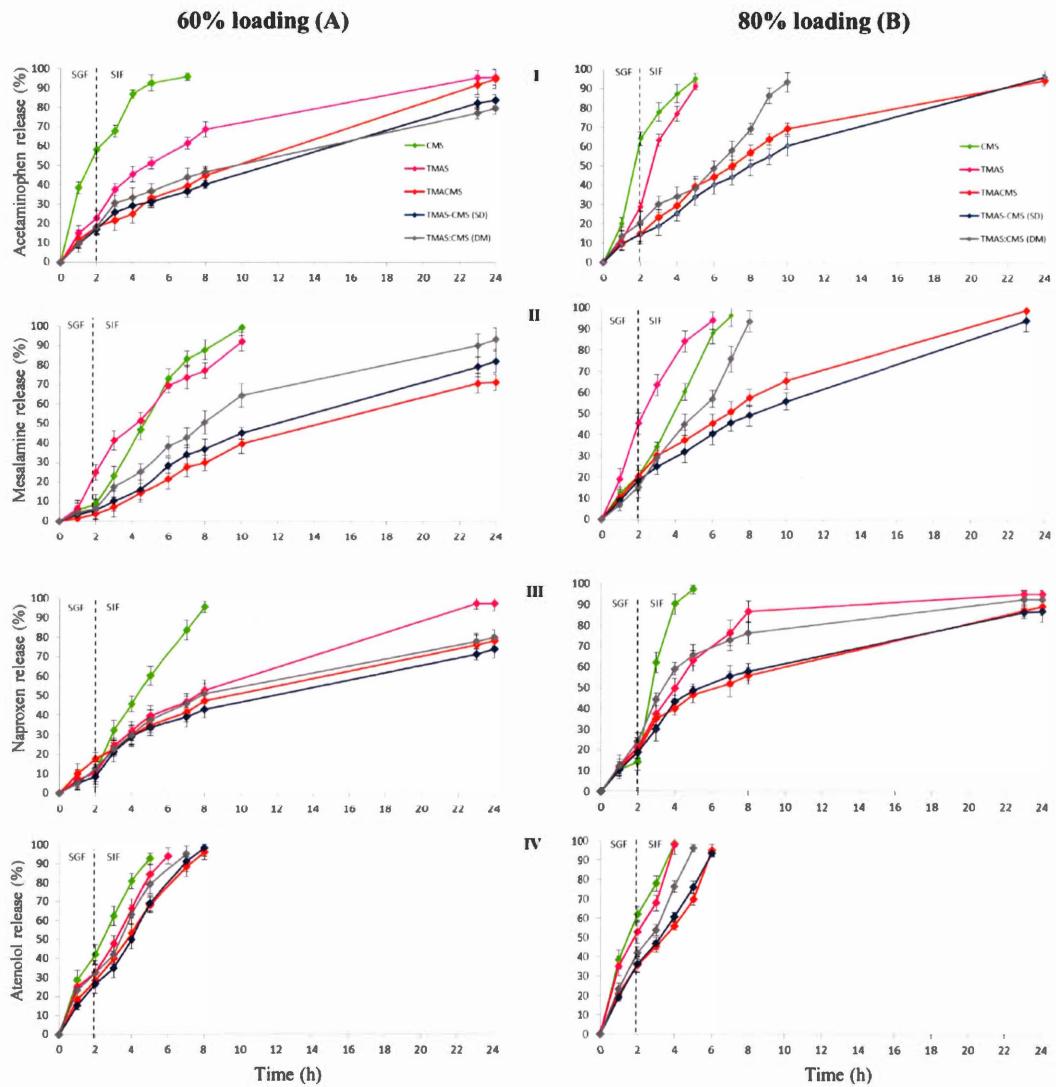


Figure 4.7 Release profiles of 60% (A) and of 80% (B) loaded tablets with: acetaminophen (I), mesalamine (II), naproxen (III), atenolol (IV). The tablets were immersed for 2 h in SGF and then transferred to SIF.

#### 4.5 Discussions

The degree of substitution ( $DS_{coo^-}$ ) and ( $DS_{N^+(CH_3)_3}$ ), pH and Zeta potential ( $\zeta$ ) were determined. The pH values were close to neutral for all of derivatives. Zeta potential values were in line with the theoretical expectations for CMS due to the presence of a negatively charged CM groups, for TMAS due to the presence of a positively charged TMA groups and for the bifunctional starch TMACMS probably due to the presence of the two types of groups CM and TMA. On the other hand, unexpected negative  $\zeta$  values observed with TMAS-CMS (SD) and of TMAS:CMS (DM) respectively, could be due to a reorganization of the chains with the orientation of the  $-COO^-$  polar groups towards the surface contact with the liquid medium (Li, L. *et al.*, 2014).

#### Fourier transform infrared (FT-IR)

The FTIR of CMS (Figure 4.1) is characterized by two specific bands at 1589 and 1415  $cm^{-1}$  attributed to stretching vibration of carboxylic  $-COO^-$  groups (Assaad *et al.*, 2012; Ispas-Szabo *et al.*, 2016). For FTIR spectrum of TMAS, the bands at 1553  $cm^{-1}$  and the shoulder at 1476  $cm^{-1}$  could be ascribed to the vibration of methyl groups carried by nitrogen  $N^+(CH_3)_3$  (Shalini *et al.*, 2010; Yang, Z. *et al.*, 2014). This may confirm the grafting of the cationic (trimethylaminohydroxypropyl) group on the starch backbone (Sekhavat Pour *et al.*, 2015). For native starch and all derivatives, bands at 3331  $cm^{-1}$  and 2980  $cm^{-1}$  correspond to  $-OH$  and  $-CH$  stretching vibrations, whereas bands at 1089 and 1000  $cm^{-1}$  were attributed to  $-CH_2-O-CH_2$  stretching vibration (Ispas-Szabo *et al.*, 2016; Sakeer *et al.*, 2017a). For TMACMS starch bands at 1553  $cm^{-1}$  and at 1415  $cm^{-1}$  may confirm a successful synthesis of ampholytic starch. The DS variations would explain the observed difference in bands intensities (Assaad et Mateescu, 2010; Hong, L. F. *et al.*, 2015).

### X-ray diffraction analysis

The X-ray diffraction showed that the native starch has a more organized semi-crystalline structure than those of compounds. The presence of double helix (B-type), shown by specific peaks at  $17.09^\circ$ ,  $22.13^\circ$ ,  $23.52^\circ$ ,  $24.08^\circ$ , corresponds to the crystalline fraction of native starch (Mateescu *et al.*, 2015). Diffractions at  $12.9^\circ$  and at  $19.89^\circ$  correspond to the simple helical (V-type). The spectra of TMAS, CMS, TMACMS derivatives and of compounds TMAS-CMS (SD) and of TMAS:CMS (DM), showed lesser organization compared to Hylon VII, with an almost total disappearance of crystalline zones (B-type) but with persistence of diffractions at  $12.91^\circ$ ,  $19.89^\circ$  corresponding to V-type structures diffused in more amorphous zones (Lenaerts *et al.*, 2001). The loss of crystallinity compared to native starch is probably related to starch disorganization by gelatinization in alkaline medium chitosan, cellulose, starch) (Mateescu *et al.*, 2015). Also, the grafting of the functional groups CM, TMA (or both) may induce a reorganization (Mateescu *et al.*, 2015). The pics of TMACMS and of TMAS-CMS SD were broader than those of TMAS and of CMS derivatives carrying only one type of ionic group on polymer chains; the same pattern was observed with TMAS:CMS (DM) preparation. When two ionic groups are simultaneously present and possibly associated, the reorganization of polymer chains would be more difficult due to lesser hydrogen association and more hydration. Consequently, the order degree decreased and the morphologies appeared more amorphous. When CMS and TMAS are co-processed as TMAS-CMS (SD), the rapid elimination of solvent (water) generated a slightly more crystalline structure (the  $19.89^\circ$  peak is higher compared to TMACMS). This is not the case of TMAS:CMS (DM) association with a milder processing and hydration.

### Thermogravimetric analyses (TGA)

The first major loss of mass observed on all samples was probably due to the water evaporation (Bao, 2015; Spychaj *et al.*, 2013) (Figure 4.3); the second stage of decomposition corresponds to the elimination of inter and intra-molecular water. The last stage is attributed to ash formation and material carbonization (Spychaj, Wilpiszewska *et al.*, 2013). The highest TD was exhibited by native starch which has a more stable structure than all compounds. This is well correlated with the XRD data (Figure 4.2). CMS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) display similar decomposition temperature (Figure 4.3), suggesting that the presence of hydrophilic carboxyl groups decreases the thermal stability of starch macromolecules (Bao, 2015).

### Scanning electron microscopy (SEM)

The morphology of native starch is probably related to the structural stability offered by hydrogen bridges, and crystal regions (B-type) (Sakeer *et al.*, 2018). The similar morphology of CMS, TMAS, TMACMS and TMAS:CMS (DM) is due to the disorganization of native structure of starch caused by gelatinization and by substitution. The presence of charged groups may affect the conformation of the helices and the overall polymeric assembling (Sakeer *et al.*, 2018). The TMAS-CMS (SD) has a specific morphology with aggregated concave (empty) granules probably formed at the end of the spray drying by a rapid water removal (Botrel *et al.*, 2014).

### Micromeritic analyses

For the angle of repose, a value less than 30° indicates a good flow while an angle greater than 56 ° indicates a bad flow. The HF values lower than 1.2 indicate a good flow of powders but a poor cohesion and compressibility, whereas a HF greater than 1.2 indicates a poor flow and a good cohesion and compressibility (Paramakrishnan *et*

*al.*, 2016; Sakeer *et al.*, 2018). The CI should be equal or less than 20% for powders with optimal flowability (Sakeer *et al.*, 2018). Overall, TMACMS has the best micromeritic properties compared to other derivatives (Table 4.1).

#### *In vitro* dissolution assays

The dissolution tests performed on placebo tablets showed that TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) provided longer tablet integrity, for at least 6h (2h SGF + 4h SIF) in comparison with CMS and TMAS excipients. In SGF, rapid swelling was found due to protonation of carboxyl groups. Once in SIF, TMACMS and TMAS-CMS (SD) display a better stability than TMAS, CMS and TMAS:CMS (DM); this could be explained by a stronger electrostatic interaction between cationic and anionic starch derivatives ( $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ ) in an aqueous medium than dry phase (Assaad *et al.*, 2011) (Figure 4.5 and Figure 4.6). To study the release profiles of APIs, dissolution tests have been carried out using four different tracers; release profiles are shown in Figure 4.7. The choice of tracers was based on BCS which classifies drugs into 4 categories according to solubility and permeability (Smetanova *et al.*, 2013). For acetaminophen, mesalamine and naproxen 60% the polyelectrolyte excipients TMACMS, TMAS-CMS (SD) and TMAS:CMS (DM) provided a significantly better release control than the single-charged CMS and TMAS derivatives. This seems to confirm the role of an electrostatic interaction between amine and carboxyl groups, and also, a possible reconfiguration of polymer structure inducing a more stable structure able to form more compact matrix and ensure a better sustained-release. In some particular cases, a polymer-API interaction could explain the difference between this release profiles. By its zwitterionic nature, mesalamine has an ionic form in SGF and another one in SIF and this could create mesalamine-polymer electrostatic interactions providing greater stability and less hydration of the dosage form. This would explain why the same polymeric excipients were able to control mesalamine and naproxen release better than that of acetaminophen under the same conditions. Differently, the

higher solubility of acetaminophen in SGF and SIF (20.3 mg / mL) may accelerate its release by favoring the pill hydration. For acetaminophen and mesalamine 80%, release profiles are shown in (Figure 4.7). The TMAS:CMS (DM) afforded a controlled release for 10h, suggesting that electrostatic interactions are not the only parameter to ensure the matrix stability. The degree of order/disorder of powders studied by XRD (Figure 4.2) showed that TMACMS, TMAS-CMS (SD) have more amorphous structures compared to the other compounds. This could be due to the attractions between opposite charges of the carboxylic and amines groups with different localizations on the chains. In addition to the hydrogen bridges, the ionic bonds may provide more stability to the TMACMS, and to TMAS-CMS (SD) compounds that would explain the extended release controlled by these two excipients. The naproxen 80% release patterns (Figure 4.7) support the hypothesis that the ionic interactions established during the synthesis and drying steps of TMACMS and TMAS-CMS (SD) could modify the starch configuration inducing a more stable structure less susceptible to hydration. For atenolol 60% and 80% (Figure 4.7), only TMACMS and TMAS-CMS (SD) were able to afford an extended release up to 8h and 6h respectively. Considering the solubility of atenolol as well as the small amount of polymers used (133 mg and 50 mg for 60% and 80% respectively) for 200 mg of API/tablet, these results can be perceived as positive. Moreover, the differences observed between the release profiles with TMACMS and TMAS-CMS (SD) and with the other excipients confirm the hypothesis of electrostatic interactions of polymer-polymer or possibly of polymer-drug interactions observed with different tracers.

#### 4.6 Conclusion

Ampholytic TMACMS and co-processed TMAS-CMS (SD) starch polymeric excipients showed the best release profiles, even at very high loading. These excipients would be of interest for sustained release systems, especially for high daily dosage drugs. Simultaneous presence of opposite charges would provide better polymer

stability and slow down tablet hydration. Electrostatic interactions strongly impact the microcrystalline organization, in addition to the hydrogen bridges, enhancing their stability. In some particular cases, polymer-drug interactions would influence release patterns. Further investigations of degree of substitution, cationic/anionic charges ratio, intra- and inter-molecular interactions, would provide greater clarity in stabilization mechanism of starch compounds.

#### Acknowledgements

This work was supported by the National Sciences and Engineering, Research Council of Canada (grant number 06912 to MAM) and by the Courtois Foundation, Canada.

## CHAPITRE V

### DISCUSSION ET CONCLUSION

#### 5.1 Discussion

La substitution de l'amidon au niveau des groupements hydroxyles que ce soit par des groupements chargés ou neutres, apporterait de nouvelles propriétés au polymère et par conséquent, de nouvelles fonctionnalités (Ju *et al.*, 2008; Masina *et al.*, 2017). Le dérivé ampholytique d'amidon TMACMA a été synthétisé en une seule étape en ajoutant SMCA et GTMAC simultanément. TMAA-CMA (SD) est un polyélectrolyte obtenu à partir d'une solution homogène de TMAA et CMA. Bien que TMACMA et TMAA-CMA (SD) possèdent les mêmes groupements fonctionnels, un dérivé ampholytique d'amidon et un polyélectrolyte d'amidon possèdent des propriétés distinctes (Assaad *et al.*, 2012). Ces différences ont été montrées par des tests de caractérisation à sec, en solution et après compression. Aussi, les dérivés monochargés TMAA et CMA ont été utilisés comme témoins pour évaluer l'impact des forces électrostatiques sur le réarrangement des chaînes polysaccharidiques, les changements morphologiques et la stabilité des polymères. Le mélange physique direct des poudres de TMAA et CMA (TMAA:CMA DM) a aussi été étudié pour estimer l'impact des interactions ioniques et la méthode de séchage sur l'organisation structurale de l'amidon. Le spectre FTIR du CMS est caractérisé par deux bandes spécifiques attribuées aux vibrations des groupes carboxyliques -COO<sup>-</sup> (Assaad *et al.*, 2012; Ispas-

Szabo *et al.*, 2016). Pour le spectre FTIR du TMAS, les bandes à 1553 cm<sup>-1</sup> et l'épaule à 1476 cm<sup>-1</sup> pourraient être attribuées à la vibration des groupes méthyles portés par l'azote -N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (Shalini *et al.*, 2010; Yang, Z. *et al.*, 2014). Cela pourrait confirmer le greffage du groupe cationique (triméthylaminohydroxypropyle) sur le squelette de l'amidon (Sekhavat Pour *et al.*, 2015). Ces bandes sont retrouvées dans le spectre du TMACMS confirmant ainsi une synthèse réussie d'amidon ampholytique. Les variations en degré de substitution (DS) expliqueraient la différence observée entre les intensités des bandes (Assaad et Mateescu, 2010; Hong, L. F. *et al.*, 2015). Les valeurs du potentiel zêta étaient conformes aux attentes théoriques pour le CMS en raison de la présence des groupes CM (négatifs) ainsi que pour le TMAS en raison de la présence des groupes TMA (positifs). Le TMACMS possède un potentiel Zêta positif probablement dû au DS N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> plus élevé que le DS<sup>-</sup>. D'autre part, les valeurs négatives inattendues de TMAS-CMS (SD) et TMAS : CMS (DM) pourraient être dues à une réorganisation des chaînes polysaccharidiques avec l'orientation des groupes polaires -COO<sup>-</sup> vers l'extérieur de surface en milieu aqueux (Li, L. *et al.*, 2014). La diffraction des rayons X réalisée sur les poudres de l'amidon natif (Hylon VII) et les autres composés, a montré que l'amidon natif avait une structure semi-cristalline caractérisée par la présence des doubles hélices type B (Mateescu *et al.*, 2015). Les spectres des dérivés TMAS, CMS, TMACMS et des composés TMAS-CMS (SD) et TMAS:CMS (DM) ont montré une organisation moindre par rapport à Hylon VII, avec une disparition quasi totale des zones cristallines (type B) mais persistance des diffractions correspondantes au zones amorphes (type V) (Lenaerts *et al.*, 2001). Cette perte de cristallinité est probablement liée à la désorganisation de l'amidon par gélatinisation dans un milieu alcalin (Mateescu *et al.*, 2015), ou au greffage des groupements fonctionnels CM et TMA (Mateescu *et al.*, 2015). TMACMS et TMAS-CMS SD possèdent des pics plus larges que ceux des autres composés, probablement causés par une nouvelle organisation des chaînes polymériques en raison d'une hydratation accrue et une faible stabilisation par des ponts hydrogènes. En conséquence, TMACMS et de TMAS-CMS SD possèdent une structure plus amorphe que les autres

composés. L'analyse thermogravimétrique confirme que l'amidon natif possède une structure plus stable que les dérivés CMS, TMAS, TMACMS et les composés TMAS-CMS (SD), TMAS:CMS (DM). Ce résultat corrèle avec les observations de la DRX. Le CMS, TMACMS, TMAS-CMS (SD) et TMAS:CMS (DM) affichent une température de décomposition quasiment similaire, suggérant que la présence des groupes carboxyles diminue la stabilité thermique des macromolécules d'amidon (Bao, 2015). La perte de masse s'est déroulée en trois étapes : La première perte de masse majeure observée sur tous les échantillons était probablement due à l'évaporation de l'eau (Bao, 2015; Spychaj *et al.*, 2013). La deuxième étape de la décomposition correspond à l'élimination des eaux inter et intramoléculaires, suivie de la dernière étape qui est attribuée à la formation des cendres et à la carbonisation des matériaux (Spychaj, Wilpiszewska *et al.*, 2013). Les études microméritiques montrent que le TMACMS présente les meilleures caractéristiques physiques comparé aux autres dérivés. Pour l'angle de repos, une valeur inférieure à 30 ° indique un bon écoulement des poudres, tandis qu'un angle supérieur à 56 ° indique un mauvais écoulement. D'autre part, des valeurs du facteur de Hausner (HF) inférieures à 1,2 indiquent un bon écoulement des poudres mais une cohésion et une compressibilité médiocres, tandis qu'un HF supérieur à 1,2 indique un écoulement médiocre mais une bonne cohésion et une compressibilité facile (Paramakrishnan *et al.*, 2016; Sakeer *et al.*, 2018). L'indice de compressibilité (IC) doit être inférieur ou égal à 20% pour une fluidité optimale des poudres (Sakeer *et al.*, 2018). Les tests de dissolution effectués sur les comprimés placebo ont montré que TMACMS, TMAS-CMS (SD) et TMAS:CMS (DM) assuraient une intégrité plus longue des comprimés pendant au moins 6h (2h SGF + 4h SIF). Dans SGF, un gonflement rapide est observé en raison de la protonation des groupements carboxyles. Une fois dans SIF, TMACMS et TMAS-CMS (SD) affichent une meilleure stabilité comparés à TMAS, CMS et TMAS:CMS (DM); cela pourrait s'expliquer par une interaction électrostatique plus forte entre les dérivés d'amidon cationiques et anioniques survenue en milieu aqueux (Assaad *et al.*, 2011). Le choix des traceurs utilisés pour l'étude des profils de libération des PA, était basé sur le BCS, qui classe

les médicaments en 4 catégories en fonction de leurs solubilités et de leurs perméabilités (Smetanova *et al.*, 2013). Pour l'acétaminophène, la mésalamine et le naproxène à 60%, les excipients polyélectrolytiques TMACMS, TMAS-CMS (SD) et TMAS : CMS (DM) ont permis un meilleur contrôle de la libération que les dérivés CMS et TMAS. Cela semble confirmer la présence d'une interaction électrostatique entre les groupes amines et carboxyles et aussi, une éventuelle reconfiguration de la structure du polymère induisant la formation d'une matrice plus compacte qui assurera une libération prolongée des PA. La mésalamine possède une forme ionique dans le SGF et une autre dans le SIF, ce qui pourrait créer des interactions électrostatiques mésalamine-polymère offrant une plus grande stabilité. Cela expliquerait le fait que les mêmes excipients étaient capables de mieux contrôler la libération de la mésalamine et du naproxène par rapport à celle de l'acétaminophène, et cela, dans les mêmes conditions. D'une autre manière, la solubilité plus élevée de l'acétaminophène dans le SGF et le SIF peut accélérer sa libération en favorisant l'hydratation du comprimé. Pour l'acétaminophène et la mésalamine à 80%, le TMAS : CMS (DM) a permis une libération contrôlée pendant 10h, suggérant que les interactions électrostatiques ne sont pas le seul paramètre garantissant la stabilité de la matrice. Le degré d'ordre / désordre des poudres étudié par XRD a montré que TMACMS et TMAS-CMS (SD) ont des structures plus amorphes par rapport aux autres composés. De plus, les liaisons ioniques peuvent fournir plus de stabilité au TMACMS et aux composés TMAS-CMS (SD), ce qui expliquerait la libération prolongée contrôlée par ces deux excipients. Les profils de libération de naproxène à 80% confirment l'hypothèse selon laquelle les interactions ioniques, établies au cours des étapes de synthèse et de séchage de TMACMS et de TMAS-CMS (SD), pourraient modifier la configuration de l'amidon en induisant une structure plus stable moins susceptible à l'hydratation. Pour l'aténolol 60% et 80%, seuls TMACMS et TMAS-CMS (SD) ont été en mesure de permettre une libération prolongée jusqu'à 8h et 6h respectivement. Compte tenu de la solubilité de l'aténolol ainsi que de la faible quantité de polymères utilisée, ces résultats peuvent être perçus comme positifs.

## 5.2 Conclusion

TMACMA et TMAA-CMA (SD) ont montré des profils de libération linéaires avec des durées de retention plus grandes que celles de CMA, TMAA et TMAA:CMA (DM) que ce soit à charge élevée (60%) ou très élevée (80%) en agent actif. La présence simultanée des groupements cationiques et anioniques participe à la stabilisation du polymère par forces électrostatiques induisant un réarrangement des chaînes polysaccharidiques formées par des hélices capables de s'auto-assembler par des liens non covalents. Ce rapprochement peut se faire préférentiellement en solution lorsque les groupements sont sous forme ionique permettant des interactions intra- ou intermoléculaires ou avec le milieu de dissolution. En certains cas, des interactions polymère/agent actif ont été observées, menant à un degré supérieur de stabilité permettant un meilleur contrôle de la libération. TMACMA et TMAA-CMA (SD) possèdent un potentiel favorable au système à libérations contrôlées par voie orale même à des teneurs très élevées en agent actifs. Comparés aux produits commerciaux, nos comprimés présentent un avantage économique car ils sont fabriqués en une seule étape (comprimés monolithiques) sans prémélange humide (mélange à sec des poudres excipient/ PA). De plus, une charge élevée en PA (60% - 80%) permet une réduction importante des tailles des comprimés et ainsi faciliter l'administration du médicament et l'observance. Des tests *in vivo* et des caractérisations supplémentaires apporteront vraisemblablement plus de réponses et amélioreront la compréhension du phénomène de l'auto-assemblage et l'impact des charges dans la stabilisation des structures. Ils pourront aussi ouvrir de nouveaux horizons et domaines d'utilisations pour ce type de polymère naturel modifié.

### 5.3 Perspectives

TMACMA et TMAA-CMA (SD) étaient capables de former des matrices stables empêchant la libération rapide des différents traceurs. Ce potentiel pourrait être amélioré par une étude comparant différents degrés de substitution et ratios cationiques/anioniques, et aussi élargir le panel des traceurs utilisés selon leurs structures, charges électriques et solubilités. Des études de caractérisation plus approfondies par DRX pourraient apporter plus de compréhension par étude des hélices obtenues après modification (le tour et le pas d'hélice) ainsi que le diamètre idéal pour une structure plus ou moins amorphe capable de générer une couche de gel plus stable. Aussi, les positions des hydroxyles substitués pourront être localisés par RMN, ce qui amènerait plus de lumière sur le rôle des groupements fonctionnels. Vraisemblablement, les tests *in vitro* permettent d'obtenir des profils de libération en conditions expérimentales. Cependant des études *in vivo* sur des espèces animales tels que des chiens pourraient appuyer les résultats expérimentaux et permettraient d'observer l'impact des fluides biologiques et des enzymes ainsi que de la motilité intestinale sur le comportement des matrices. Enfin, des dérivés d'amidon ont été introduits récemment comme vecteurs pour des systèmes de délivrance de gènes sous forme de polypléxe (Amar-Lewis *et al.*, 2014; Wang, H. *et al.*, 2017a). Un dérivé ampholytique d'amidon à bas poids moléculaire à charge globale positive pourrait être un bon candidat pour des expériences pareilles.

ANNEXE A  
PRESENTATIONS ORALES DURANT LE PROJET DE MAITRISE

Symposium du réseau de l'Université du Québec sur la Recherche Biomédicale et Biopharmaceutique, BioMed & PharmaQAM 10-11 mai 2018, Mont Gabriel (Quebec) Canada.

Novel Ampholytic Trimethylamine-Carboxymethyl-Starch Excipient for Pharmaceuticals Applications

Nassim Benyerbah, Pompilia Ispas-Szabo, Khalil Sakeer, Daniel Chapdelaine, Mircea Alexandru Mateescu.

Purpose: The aim of this study was to synthesize a new type of ampholytic starch derivative with self-stabilizing properties. Starch was modified by [random] O-substitution of some of its free hydroxyl groups with anionic Carboxymethyl (CM) and cationic Trimethylamine (TMA) groups. This new heteropolysaccharide, called Trimethylamine-Carboxymethyl-Starch (TMACMS), has been designed for, and evaluated as excipient for pharmaceutical solid dosage forms. Methods: The ampholytic starch derivatives were prepared via different methods: a) by one step synthesis, TMACMS, b) by direct mixing (DM) of the dry powders of Trimethylamine-Starch (TMAS) with Carboxymethyl-Starch (CMS), leading to DM-TMA:CMS or c) by Spray-Drying (SD) of their aqueous mixture, SD-TMA:CMS. The obtained preparations were characterized by Fourier Transform InfraRed Spectroscopy, X-Ray Diffraction, Scanning Electron Microscopy, ThermoGravimetric and Micromeric Analysis. Monolithic tablets were prepared by compression of the dry 46 mixtures consisting of starch derivative and neutral (Acetaminophen) or amphoteric (Mesalamine) drug models at high (60%) and very high (80%) loading. Results: Dissolution tests carried out in vitro according to the US Pharmacopeia recommendations have shown that, unlike cationic or anionic starch derivatives, the new polymers (in particular TMACMS and SD-TMAS:CMS) are able to ensure a stable and sustained drug release, even at 80% loading. This may be explained by the selfassembling of polysaccharidic chains via electrostatic interactions established between oppositely charged groups, putatively acting as “ionic bridges” in stabilization of the chains. Conclusion: The polymers TMACMS and SD-TMAS:CMS can generate stable matrices providing sustained drug release and can be used for challenging formulations with high drug loading.

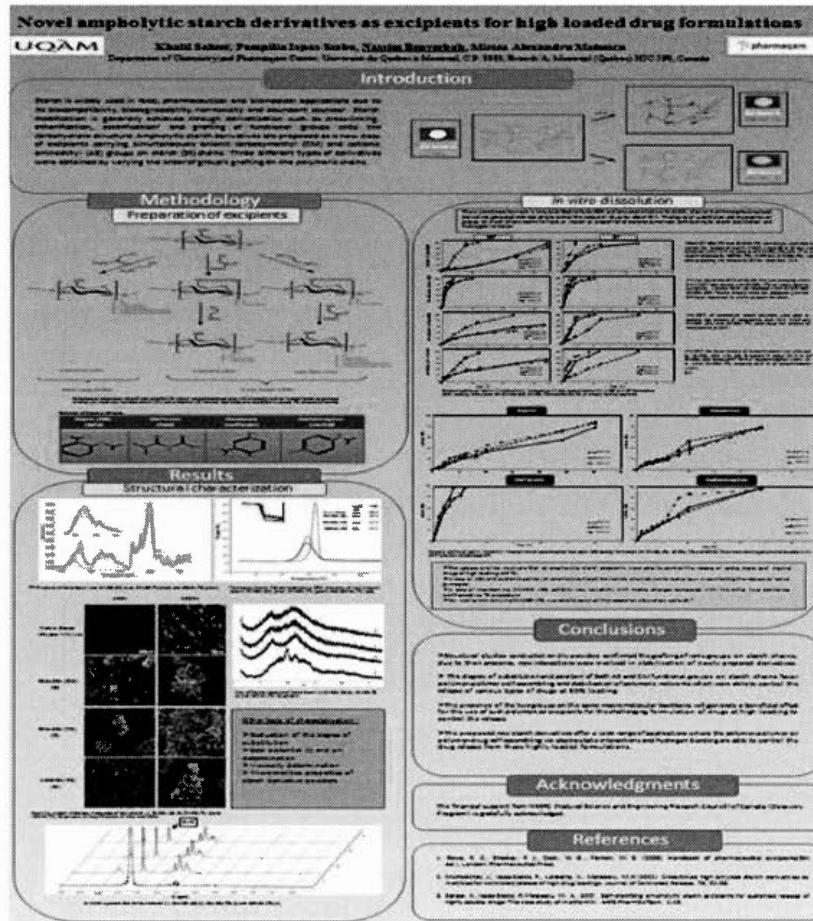
## ANNEXE B

### PRESENTATIONS PAR AFFICHE DURANT LE PROJET DE MAITRISE

#### B.1. 7<sup>e</sup> Colloque RQRM (Réseau québécois de recherche sur les médicaments) Québec, 30 sept – 1 oct, 2017

Novel ampholytic starch derivatives as excipients for high loaded drug formulation

K. Sakeer, P. Ispas-Szabo, N. Benyerbah, M. A. Mateescu.



B.2. 7<sup>e</sup> Colloque Pharmaquam (Université du Québec à Montréal). 31 August, 2017. Montréal, Québec, Canada.

Ampholytic starch excipients for high loaded drug formulations.

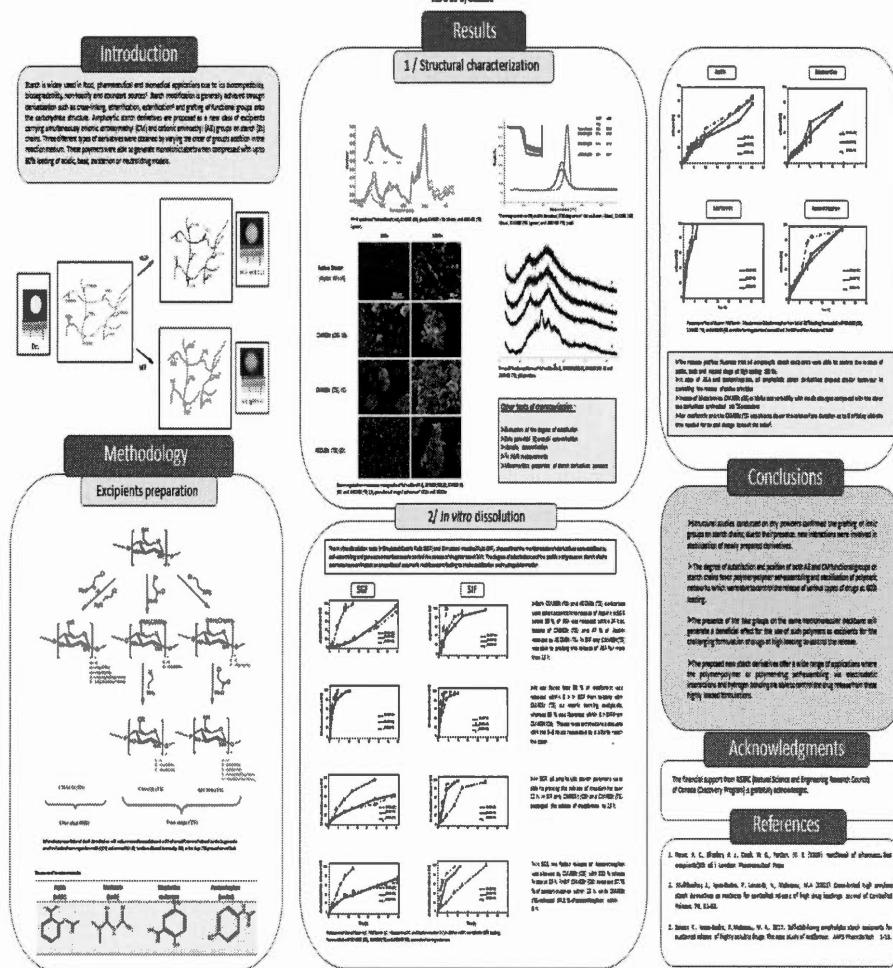
K. Sakeer, P. Ispas-Szabo, N. Benyerbah, M. A. Mateescu.

## AMPHOLYTIC STARCH EXCIPIENTS FOR HIGH LOADED DRUG FORMULATIONS

Khalil Sakeer, Pompilia Ispas-Szabo, Nassim Benyerbah, Mircea Alexandru Mateescu

UQÀM

Department of Chemistry and Pharmacogen Center, Université du Québec à Montréal, C.P. 8888, Branch A, Montréal (Québec) H3C 2P8, Canada



ANNEXE C

PARTICIPATION A LA PUBLICATION D'UN ARTICLE SCIENTIFIQUE  
COMME CO-AUTEUR DURANT LE PROJET DE MAITRISE

**Ampholytic starch - excipients for high loaded drug formulations: Mechanistic insights.** Published in International Journal of Pharmaceutics,  
2017, 535, 201-216

K. Sakeer, P. Ispas-Szabo, N. Benyerbah, M. A. Mateescu.

---

International Journal of Pharmaceutics 535 (2017) 201–216

 Content lists available at ScienceDirect  
**International Journal of Pharmaceutics**  
journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijpharm](http://www.elsevier.com/locate/ijpharm)

---

Research Paper

**Ampholytic starch excipients for high loaded drug formulations: Mechanistic insights**

Khali Sakeer, Pompeia Ispas-Szabo, Nassim Benyerbah, Mircea Alexandru Mateescu\*

Department of Chemistry and Pharmacy Ceaur, Université du Québec à Montréal, C.P. 8000, Bureau A, Montréal, Québec H3C 2K6, Canada

---

**ARTICLE INFO**

**Keywords:** Ampholytic starch; Crosslinking; Self-assembly; Self-removing; High loading formulation

**ABSTRACT**

Ampholytic starch derivatives are prepared as a new class of excipients carrying simultaneously anionic carboxymethyl (CM) and cationic ammonium (AK) groups on starch (S) polymeric chains. Three different types of derivatives were obtained by using the same reagents and varying only the order of their addition in the reaction medium. In addition, the effect of the two reagents on the addition sequence, namely, whether to add first the CM or the AK, was also studied. It was found that the self-removal of the second reactant is faster than the first one. Following the subsequent addition of the second reactant, it was found that all ampholytic derivatives were able to generate monolithic tablets by direct compression and allowed 60% loading of acidic (*Acetylsalicylic acid*), basic (*Metformin*), zwitterionic (*Mesalamine*) or neutral (*Acetaminophen*) as drug models. The *in vitro* dissolution tests (followed for 2 h in RCF and then in SIF), showed that the mentioned starch derivatives were stabilized by self-removal and generated matrices able to control the release of drugs for about 24 h. The addition order of reagents has an impact on ampholytic starch preparation indicating that a high variability of this new class of starch excipients that can be tailored for challenging formulations with high amounts of several drugs.

---

**1. Introduction**

Last decades were marked by innovative concepts of new drug delivery systems based on improved effectiveness of medication and patient compliance. Molecular self-assembly based on noncovalent, weak interactions established between macromolecules represents a simple way to generate various supramolecular structures with a wide range of properties (Mateescu et al., 2006). This versatility is related to the possibility to tailor the polymeric structures in order to obtain preparations suited a specific application (Rasmussen et al., 2013; Hayashi et al., 2017). Hydrogels are largely used in controlled delivery of therapeutic agents and, despite the variety of their structures, there are two main features that can be modulated: hydrophilicity/hydrophobicity and the crosslinking characteristics. Hydrogels can be derived from natural sources such as cellulose (Bisht and Gaba, 2008; Yashkovskaya et al., 2016), starch (Gupta-Dealo et al., 1999, 2017), chitosan derivatives (Valk et al., 1994; Soane et al., 2014; Soane Menegatci et al., 2015), or synthetic polymers like methacrylates (Khor and Ota, 1990), polyethylene glycol (Oka and Oba, 1990) and derivatives, in order to better control the drugs release. Most of self-assembled molecules present hydrophilic and/or hydrophobic domains where the hydrophilic zones can carry charges (anionic, cationic or zwitterionic) or may be uncharged but polar (Oku and Oba, 1990; Ajil

Alex et al., 2017; Yu et al., 2017). Intramolecular interactions may be responsible for the conformation of the molecules and conduct to specific secondary structures (helix, collar sheet) whereas the intermolecular interactions between molecules may be responsible for defined supramolecular structures like nanogels (Lamprecht et al., 2014), polyelectrolyte capsules (Gheorghiciuc et al., 2014, 2016), cubosomes (Yang et al., 2014a), etc. Due to its biocompatibility and abundant sources, starch is widely used in pharmaceutical and biomedical applications (Calisirou et al., 2005, 2007; Sakeer et al., 2017a). The availability of three hydroxyl groups per glucose units offers the possibility for chemical modification enriching thus the panel of starch properties and applications. Starch modification was achieved through various reactions such as crosslinking (Lamotte et al., 1990), esterification, etherification (Sakeer et al., 2007; Sakeer and Mateescu, 2009, 2007; Sakeer et al., 2010a), and grafting (Sakeer et al., 2017) of functional groups onto the carbohydrate backbone. The esterification (i.e. by derivatization with acidic anhydrides) can reduce starch hydrophilicity generating matrices for drug release (Mühlebacher et al., 2001) or provide interesting film-forming properties (Sakeer et al., 2017a). Differently, starch etherification with sodium monochloroacetate produced carboxymethyl starch (CMS), an ionic matrix forming excipient for drug delivery with multiple applications such as protection of the active pharmaceutical ingredients (API) from gastric acidity (Calisirou et al.,

2005, 2007), drug controlled release (Lemieux et al., 2009) or chronodelivery medication (Ispas-Szabo et al., 2017). Very limited studies investigated aminoethyl starch (AES) as biomedical material (Mell et al., 1968; Sakeer et al., 2017a). AES can be obtained by amidation of starch by etherification with chloroethylamine hydrochloride. Some previous studies illustrated amphoteric starch carrying quaternary ammonium (QA) and phosphate groups (Lin et al., 2012; Peng et al., 2016) or QA and CM groups (Shimai et al., 2006; Yang et al., 2014c) or QA and succinate groups (Lekniate et al., 2013) but the majority of these amphoteric derivatives were used as flocculants in environmental processes (Xu et al., 2005; Shimai et al., 2006; Lekniate et al., 2013; Yang et al., 2014b, c; Peng et al., 2016). Another approach consisted in a physical dry mixture of CMS with polymers containing amine groups (i.e. chitosan) or the preparation of polyelectrolyte complex (PEC) obtained by co-processing which are able to sustain the release of neutral and acidic APIs in SIF at 20% drug loading (Assand et al., 2011).

In the present study, we are investigating a new class of amphoteric starch derivatives carrying both anionic CM and cationic AE groups on the starch backbone chains. In a previous study we investigated only one type of starch derivative as matrix for metformin delivery (Sakeer et al., 2017b) while now we are exploring three types of amphoteric starch obtained by three different methods using the same reagents. Considering the simultaneous presence of CM and AE functional groups and their eventual pH-dependent ionization on different dissolution media, it was of interest to understand the capacity of them equivalents to control the liberation of various drugs. Thus neutral (acetaminophen), acidic (acetylsalicylic acid - ASA), basic (metformin) and zwitterion (mesalamine) drug active molecules were used as tracers in monolithic tablets with the aim to evaluate the usefulness of the new class of excipients for drug formulation mainly for controlled delivery of high loaded dosage forms.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

High amylose starch (tylon VII) was supplied by National Starch/Ingredion (Bridgewater, NJ, USA). Mesalamine (pharmaceutical grade) was a product of Pharma2Cell (Raubling, Germany). Metformin (1,1-dimethylbiguanide hydrochloride) was from MP Biomedicals (Solon, OH, USA) and acetylsalicylic acid (ASA) was from Fisher Scientific (Hampton, NH, USA). Acetaminophen and sodium monochloroacetate (SMCA) were from Sigma-Aldrich (Germany) and 2-chloroethylamine hydrochloride (CEAHC) was from Fluka (Switzerland). The other reagents were chemical grade and used without further purification.

### 2.2. Preparation of starch derivatives

To investigate the effect of ionic charges on the control of drug delivery various starch derivatives were synthesized by two different procedures (Fig. 1):

A) One step (OS) approach: the two reagents sodium monochloroacetate (SMCA) and 2-chloroethylamine hydrochloride (CEAHC) were rapidly dissolved in water and then added simultaneously to gelatinized starch.

B) Two steps (TS) approach: the polymers were prepared in two ways by changing the order to introduce the functional groups: (1) the anionic (CM) groups were grafted first and then followed by cationic (AE) ones (2) the cationic groups were first introduced on polymeric chains followed by anionic ones. Thus AES was prepared first by dissolving CEAHC in water and added to gelatinized starch. The obtained polymer was precipitated and then re-dissolved and reacted with SMCA in order to obtain AECMS.

Practically, in OS method an amount of 12.50 g of starch was dispersed in 50 mL of distilled water at 60–70 °C and then gelatinized with

75 mL of 5 M NaOH under continuous stirring for 1 h at 60–70 °C. An amount of 9.37 g of SMCA was rapidly solubilized in a minimal water volume. Separately, an amount of 9.37 g CEAHC was dissolved in a minimal water volume and rapidly added to gelatinized starch simultaneously with the SMCA continuing the stirring for 1 h maintaining the pH 9–10. Then, the preparation was cooled down and neutralized with glacial acetic acid. The carboxymethyl aminoethyl starch CMAES (OS) powder was separated precipitation from the slurry with an equivalent volume of methanol:water (70:30 v/v). The derivative was washed with methanol:water (70:30 v/v) until a final conductivity (Fisher Scientific Autometer Research AR20, San Diego, CA, USA) of filtrate decreased to less than 75  $\mu\text{s}/\text{cm}$ . Pure methanol and acetone were used for final drying, the collected powder was left overnight at room temperature for complete air drying and sieved to obtain particles of less than 300  $\mu\text{m}$ .

For the two steps (TS) method, the starch was first gelatinized as previously described for the OS procedure. To produce Carboxymethyl starch (CMS), the proper amount of SMCA was quickly solubilized in a minimal water volume and added to the gelatinized starch maintaining the stirring for 1 h at 60–70 °C at pH 9–10. Separately, the Aminoethyl starch (AES) was obtained by rapidly solubilizing the proper mass of CEAHC in water and then added to the gelatinized starch continuing the stirring for 1 h at 60–70 °C and pH 9–10. Then, the solution was cooled down and neutralized with glacial acetic acid. The polymer powders were obtained by precipitation with methanol and dried as described previously. The CMS or AES were each re-dissolved in 50 mL of distilled water followed by addition of 75 mL of 5 M NaOH and heated at 60–70 °C for 1 h under continuous stirring for gelatinization. Amounts of 9.37 g CEAHC (in case of CMS), to obtain CMAES (TS) or 9.37 g SMCA (in case of AES), to obtain AECMS (TS) were solubilized in a minimal water volume and added to gelatinized starch keeping the stirring for 1 h at 60–70 °C and pH 9–10. Then, the solutions were cooled down and neutralized with glacial acetic acid. The CMAES (TS) and AECMS (TS) powders were each obtained by precipitation with methanol and drying as described above.

### 2.3. Evaluation of the degree of substitution

A) The degree of substitution (DS) with CM groups was determined by back-titration as previously described by Stojanović et al. (2005) with small modification. Briefly, 100 mg of polymer ( $n = 3$ ) were solubilized in 10 mL of 0.05 M NaOH, and phenolphthalein was added as indicator. The excess of NaOH was titrated with 0.05 M HCl. The blank (10 mL of 0.05 M NaOH) was also titrated by the same method. The amount of  $\sim\text{COOH}$  groups and the DS were calculated (Stojanović et al., 2005) using the Eqs. (1), (2):

$$n = \frac{(V_b - V)}{C_{\text{HCl}}} \quad (1)$$

$$\text{DS} = \frac{162 \times n}{m - W \times n} \quad (2)$$

where  $V_b$  (mL) is the volume of HCl used for the titration of the blank;  $V$  (mL) is the volume of HCl used for the titration of the sample;  $C_{\text{HCl}}$  (mol/L) is the concentration of HCl; 162 (g/mol) is the molar mass of glucose unit;  $W = (S6)$  (g/mol) is the increase in the mass of glucose unit by substitution with a CM group; and  $m$  (g) is the mass of dry sample.

B) The degree of substitution (DS) expressed in terms of amino groups on the final derivative was determined with the ninhydrin reagent (2 g ninhydrin dissolved in 75 mL dimethylsulfoxide under nitrogen flushing and completed with 25 mL of 4 M lithium acetate buffer, pH 5.2). A volume of 0.5 mL of the ninhydrin reagent was added to a volume of 0.25 mL of amphoteric starch solution (15 mg/mL) in deionized water (in triplicate). The vials were immediately capped, vortexed, and heated in a covered boiling water bath for 30 min. Vials were then cooled below 30 °C in a cold water bath. The absorbance at

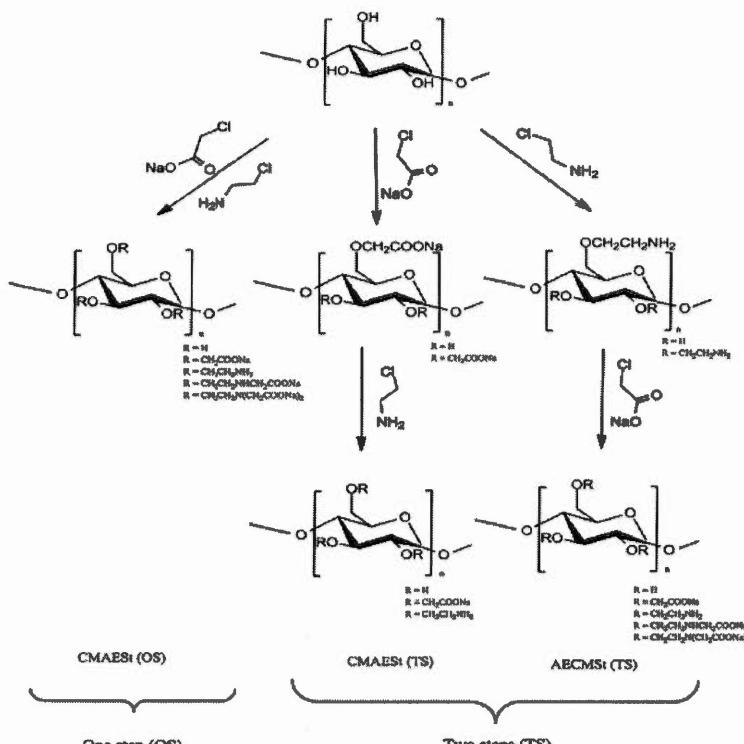


Fig. 1. Schematic presentation of starch derivatization with sodium monochloroacetate and with chloroammonium hydrochloride to generate amphotropic starch carrying carboxymethyl (CM) and aminoethyl (AE) functions obtained by one step (OS) or two steps (TS) preparation methods.

570 nm was measured on a UV/VIS spectrophotometer with zero set against a similarly treated blank of water. Glycine (Sigma) solutions (0.12–0.51 mg/ml) were used to generate a standard curve (Le Tien et al., 2003; Le Dévédec et al., 2008).

#### 2.4. Zeta potential ( $\zeta$ ) and pH determination

Measurements of surface charge of various polymer solutions were performed using ZetaPlus/BI-PALS (Brookhaven Instrument Corp, Holtsville, NY, USA). The measurements were carried-out at 25 °C. Analysis of the particle surface charge was done in triplicates. The pH of polymer solution 1% (w/v) in water at room temperature was measured by a Fisher Scientific Accumet Research AR20 pH-meter.

#### 2.5. Viscosity determination

The viscosity of starch derivatives in concentration of 1% (w/v) in water and in phosphate buffer pH 6.8 at 25 °C was measured on a Brookfield viscometer (DV-II pro viscometer, Middleboro, MA, USA). The experiment was done with a spindle CPE 40 at 10 rpm after 4 h and

after 48 h.

#### 2.6. Fourier transform infrared (FT-IR) analysis

The FT-IR spectra of native starch (Hylon VII) and of its derivatives as powders were recorded (64 scans at a resolution of 4 cm<sup>-1</sup>) using a Thermo-Nicolet 6700 FT-IR spectrometer (Madison, WI, USA) equipped with a deuterated triglycine sulfate-KBr (DTGS-KBr) detector and a diamond smart attenuated total reflection (ATR) platform.

#### 2.7. <sup>1</sup>H NMR measurements

To determine the starch functionalization pattern, <sup>1</sup>H NMR spectra were collected using a high-field 600 MHz, Bruker Avance III HD spectrometer running TopSpin 3.2 software and equipped with a 5 mm TCI cryoprobe. The temperature of samples was regulated at 27 °C. The samples were dissolved either in deuterium oxide (D<sub>2</sub>O) or in deuterated dimethyl sulfoxide-d<sub>6</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>) with both methyl groups deuterated, then heated at 65 °C for 30 min, and kept at 4 °C for 2 h.

### 3. Results and discussions

#### 3.1. Structural insights

The hydroxyl groups on glucopyranose ring are susceptible to react with the proposed reagents SMCA and/or CEAHC in the order C<sub>2</sub>, C<sub>6</sub> and C<sub>3</sub>. In amphotropic starch, the hydroxyl group can be involved in substitution with CM ( $\text{CH}_2\text{COONa}$ ) groups after reaction with SMCA or substitution with AE ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ) groups by reaction with CEAHC, whereas secondary interactions between CEAHC and SMCA may produce ethylamino carboxymethyl (EACM) ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2\text{COONa}$ ) or ethylamino dicarboxymethyl (EADCM)  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COONa})_2$  groups. In the case of one step polymer preparation (Fig. 1) at least three different types of structures can theoretically occur: 1) CM and AE starch derivatives; 2) CM and secondary and/or tertiary amines, but exhibiting terminal aminoethyl (AE) groups; 3) ethylamine groups substituted with CM groups exhibiting EACM or AE(CM)<sub>2</sub> (EADCM). In two steps method, when CM groups are grafted firstly, followed by introduction of AE groups, one type of starch derivative is expected presenting CM and AE groups. Differently, for AECMS<sub>t</sub>, when AE groups are grafted first and then followed by CM groups, there is a good probability of amine groups to be substituted with CM groups and to generate also EACM and EADCM groups (Fig. 1). The degrees of substitution (DS) with CM determined by back-titration of the amphotropic samples were 0.024, 0.041 and 0.028 for CMAES<sub>t</sub> (OS), CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS), respectively. These DS values represented the average number of carboxymethyl groups per glucose unit. The DS in terms of primary amine (AE) groups were 0.012, 0.012 and 0.015 mmol/g for CMAES<sub>t</sub> (OS), CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS), respectively. The ionic charge of the aqueous solutions of amphotropic starches calculated as Zeta potential ( $\zeta$ ) was  $-25.9\text{ mV}$  for CMAES<sub>t</sub> (OS), whereas  $\zeta$  values of  $-42.98\text{ mV}$  were found for CMAES<sub>t</sub> (TS) and  $-52.5\text{ mV}$  for AECMS<sub>t</sub> (TS). These values are consistent with the chemical modification of starch by CM, AE, EACM or EADCM groups. The highest value for AECMS<sub>t</sub> (TS) could be ascribed due to the higher amount of EACM and/or EADCM providing a stronger negative charge (Wongsaengsup et al., 2005a, b). For the 1% (w/v) polymer solution in water the pH values were 6.42, 6.2 and 6.9 for CMAES<sub>t</sub> (OS), CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS) respectively, indicating that almost all amphotropic starch were neutral. The viscosity of CMAES<sub>t</sub> (TS) after 4 h in water was  $0.34\text{ dL}$ , higher than that of AECMS<sub>t</sub> (TS) and of CMAES<sub>t</sub> (OS), whereas after 48 h all polymers showed almost similar viscosity. These values indicate that all polymers are hydrated almost at the same extent in water but with different rates.

On the other hand, CMAES<sub>t</sub> (OS) showed higher viscosity after 4 h and after 48 h in phosphate buffer pH 6.8 in comparison with CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS) probably due to the higher solubility of both CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> in phosphate buffer, whereas CMAES<sub>t</sub> (OS) undergo swelling rather than solubilization in SIF (Table 1).

#### 3.2. Fourier transform infrared (FT-IR) analysis

For starch and its derivatives (Fig. 2) a broad band (3200–3400 cm<sup>-1</sup>) with a maximum at 3296 cm<sup>-1</sup> is due to the stretching vibrations of  $-\text{OH}$ , and a small band at 2927 cm<sup>-1</sup> is attributed to the  $-\text{CH}$  stretching vibration. The band at 1079 cm<sup>-1</sup> was

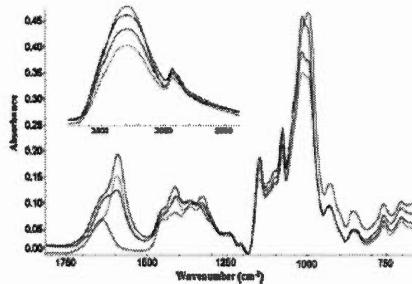


Fig. 2. FT-IR spectra of Native Starch (red), CMAES<sub>t</sub> (OS) (blue), CMAES<sub>t</sub> (TS) (black) and AECMS<sub>t</sub> (TS) (green).

ascribed to  $\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2$  stretching vibrations. The bands at 1589 cm<sup>-1</sup> and at 1417 cm<sup>-1</sup> were ascribed to  $-\text{COO}^-$  group (Stojanovic et al., 2005; Ispas-Selaru et al., 2017). The higher intensity in case of CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS) could be due to higher amount of carbonylate groups. The high intensity of the band at 999 cm<sup>-1</sup> could be ascribed to C–N stretching vibrations, whereas the weak shoulder between 1630–1735 cm<sup>-1</sup> could be assigned to  $-\text{NH}$  bend (Deng et al., 2006; Asaad et al., 2011). The presence of these additional bands confirms the grafting of CM, AE, EACM or EADCM onto the starch backbone.

#### 3.3. $^1\text{H}$ NMR measurements

Fig. 3a, b, presents the  $^1\text{H}$  NMR spectra of the native starch (Hylon VII) and its amphotropic derivatives in  $\text{D}_2\text{O}$  and in DMSO-d<sub>6</sub> respectively. When  $\text{D}_2\text{O}$  was used as a solvent, the proton signals at 5.3 ppm were ascribed to H1 and those at 3.3–3.9 ppm were assigned to H2–6 (Yang et al., 2014b). The most significant peaks at  $\delta = 2.17\text{--}2.20$ ,  $\delta = 3.16\text{--}3.18$  were found for amphotropic starch derivatives and not for native starch. They belong to the hydrogens of aminoethyl groups (Noga et al., 2012; Ansari-Lewis et al., 2014). The lower intensity of starch pattern is due to the limited solubility of starch in  $\text{D}_2\text{O}$ . With DMSO-d<sub>6</sub> as solvent the peaks were sharp. The peak at 3.31 ppm was ascribed to H2, and those at 3.36 ppm to H4, at 3.57 ppm to H5 and at 3.64 ppm to H3. The chemical shifts of  $-\text{OH}(2)$ ,  $-\text{OH}(3)$ , and  $-\text{OH}(6)$  were possibly at origin of peaks between 4.58 and 5.50 ppm, whereas the proton signals at 5.3 ppm were assigned to H1 (Namazi et al., 2011; Yang et al., 2014b). The most significant peaks are at  $\delta = 3.16\text{--}3.18$ , which belong to the hydrogens of aminoethyl group. The peak at  $\delta = 1.6$  is related to the methylene group of CM (Namazi et al., 2011).

#### 3.4. Thermogravimetric analysis

The thermogravimetric pattern (TGA and DTG curves) of native starch and its derivatives investigated in a temperature range of 25 °C–600 °C are presented in Fig. 4. All samples showed a two-steps weight loss below 600 °C. The first one was minor and seems to correspond to the loss of intramolecular and intermolecular water around 50–110 °C. The second one may be related to material decomposition (Li et al., 2010; Zhang et al., 2014). Water is considered one of the main products of decomposition at temperatures below 270 °C. Further heating up to 600 °C resulted in carbonization and ash formation. The maximal decomposition temperature (MDT) was 291 °C for AECMS<sub>t</sub> (TS), whereas MDT for CMAES<sub>t</sub> (OS) was 294 °C and MDT for CMAES<sub>t</sub> (TS) was 293 °C. All values are lower than the MDT of native Starch (324 °C). The reason seems to be the substitution of hydroxyl groups of

Table 1  
Viscosity ( $\text{dL}$ ) of starch derivatives at 1% w/v in distilled water (W) and in SIF measured after 4 h and respectively after 48 h, at 25 °C

Time/Media	CMAES <sub>t</sub> (OS)		CMAES <sub>t</sub> (TS)		AECMS <sub>t</sub> (TS)	
	W	SIF	W	SIF	W	SIF
4 h	7.94	7.37	8.34	2.82	7.70	2.88
48 h	8.95	5.82	8.77	3.00	8.41	3.00

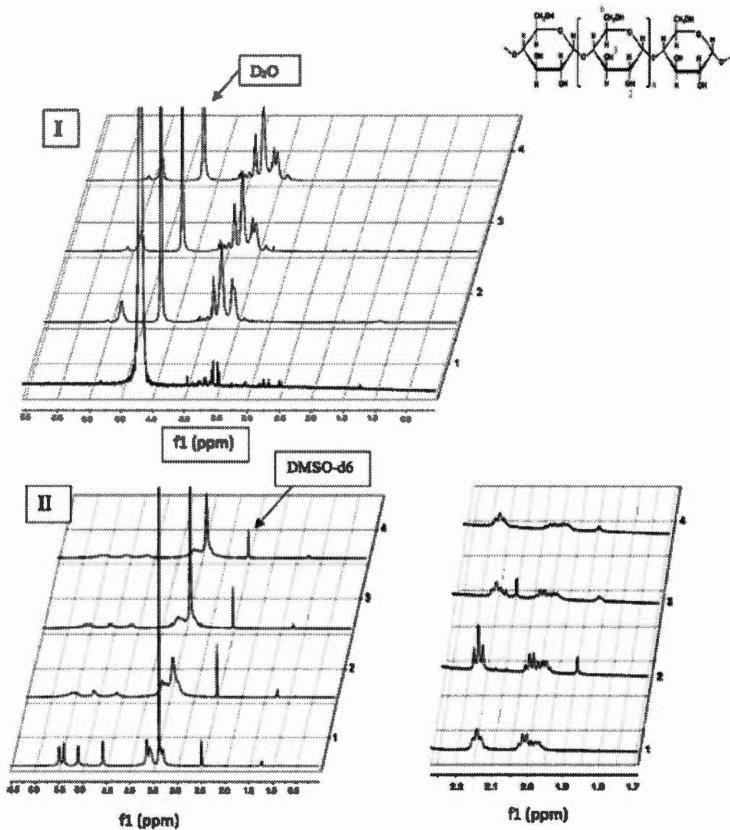


Fig. 3.  $^1\text{H}$  NMR spectra in  $\text{D}_2\text{O}$  (I) and in  $\text{DMSO-d}_6$  (II) for Native Starch (1), CMAES (OS) (2), CMAES (TS) (3) and ABCMSt (TS) (4).

starches with CM and/or AE and/or EACM or EADCM groups. By calculating the area under the curve (AUC) for the main stage of polymer degradation, the decomposed components could be qualitatively determined. The AUC of the main decomposition stage of native starch was 80.6 and it is higher than AUC of other derivatives, which means that native starch is decomposed as a function of temperature at a different pattern than other amphotropic starch derivatives, due to their functionalization starch with CM, AE, EACM or EADCM groups. The AUC for CMAES<sub>t</sub> (TS) and ABCMSt<sub>t</sub> (TS) are very close each other, suggesting that similar amounts of resembling components are decomposed as a function of temperature. (Tiwari and Hihara, 2009, 2012).

### 3.5. X-ray diffraction

X-ray diffraction of native starch (Hylon VII) powder and of its derivatives (Fig. 5) showed the starch as the most ordered organization with diffraction peaks at  $2\theta = 16.78^\circ$ ,  $17.48^\circ$ ,  $19.84^\circ$ ,  $25.86^\circ$  corresponding to a type B structure and at  $2\theta = 23.02^\circ$ ,  $13.38^\circ$  corresponding to V type structure. By derivatization, a pronounced reduction in order degree was observed with peaks decreased or disappeared (those at  $2\theta = 19.84^\circ$ ,  $25.86^\circ$ ), suggesting the loss of the B-type double helix, possibly due to the effect of derivatization of the hydroxyl groups with either CM groups (Wang et al., 2010; Gao et al., 2011) or AE groups (Kuo and Lai, 2007; Pi-Xin et al., 2009; Chang et al., 2014) or EACM or EADCM groups. However, hydrogen bonds contributed to maintain the starch order in a certain extent. The CMAES<sub>t</sub> (OS) pattern presented sharper peaks at  $2\theta = 13^\circ$ - $16^\circ$  and  $2\theta = 21^\circ$ - $25^\circ$  than CMAES<sub>t</sub> (TS) or

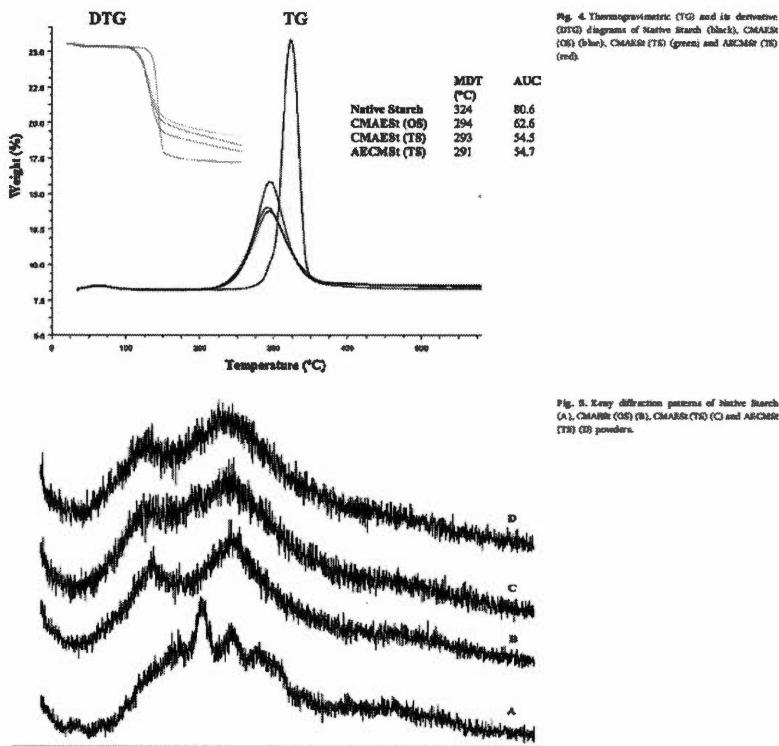
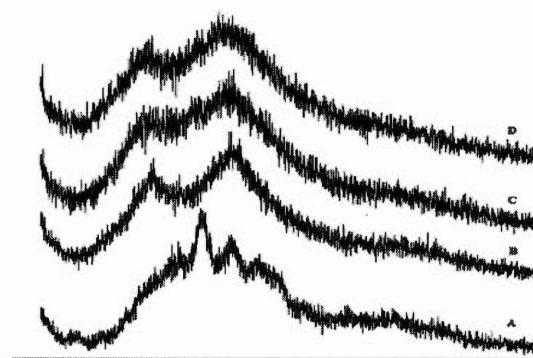


Fig. 4. Thermogravimetric (TG) and its derivative (DTG) diagrams of Native Starch (black), CMAES (OS) (blue), CMAES (TS) (green) and AECMSt (TS) (red).

Fig. 5. X-ray diffraction patterns of native starch (A), CMABR (OS) (B), CMABR (TS) (C) and ABCMR (TS) (D) powders.



ABCMS (TS).

#### 3.6. Scanning electron microscopy

The aspects of native starch (Hylon VII) and of CMAES (OS) of CMAES (TS) and of AECMSt (TS) derivatives are different (Fig. 6) depending on modifications operated on the starch structure. The native starch (Hylon VII) granules (Fig. 6A) were predominantly round or oval in shape, with a smooth surface. This seems due to the high content of amylose (more than 70%), which is more crystalline, known to exhibit double helix- $\beta$  form and to be strongly stabilized by hydrogen associations between the hydroxyl groups of glucopyranose units (Pinto et al., 2013). The CMAES (OS) is characterized by an irregular shape with an uneven surface likely due to the association of numerous

small particles forming larger granules (Fig. 6B). The presence of carboxylic groups probably reduced the network self-assembling by hydrogen associations between hydroxyl groups and promoted repulsion effects leading to the reorganization of the polymeric matrix (Lemieux et al., 2010). Smoother surfaces were observed Fig. 6C, D, in case of CMAES (TS) and of AECMSt (TS) which might be due to the higher DS of CM (Sukkar et al., 2017b).

#### 3.7. Micromeritic properties of starch derivatives powders

The flow properties of the powder formulations are important parameters from industrial perspective because improper flowability may lead to problems in storage of excipients, handling and processing operations. The micromeritic properties were assessed by determining

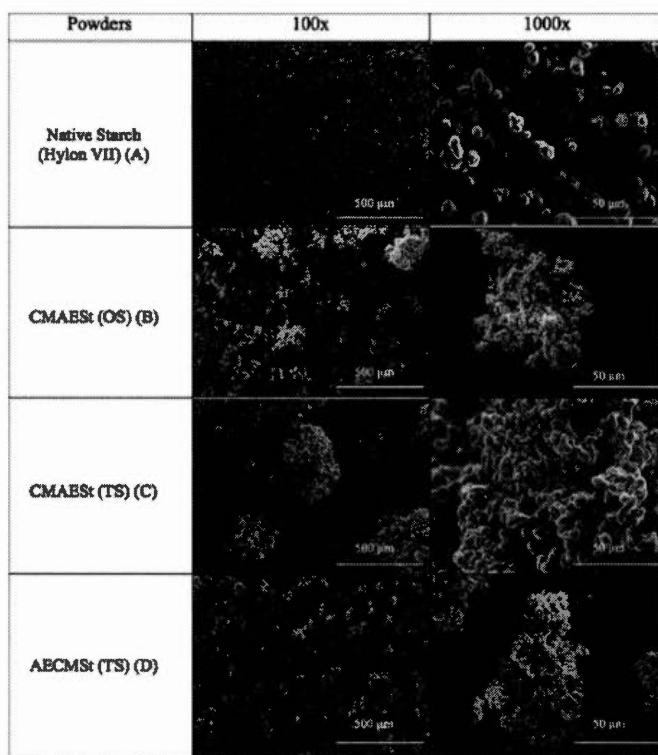


Fig. 6. Scanning electron microscopy micrographs of Native Starch (A), CMAES<sub>t</sub> (OS) (B), CMAES<sub>t</sub> (TS) (C) and AECMS<sub>t</sub> (TS) (D) powders at magnifications of 100x and 1000x.

Table 2  
Micromeritic properties of starch derivatives powders.

	θ (°)	CI (%)	HR
CMAES <sub>t</sub> (OS)	28.30	28	1.6
CMAES <sub>t</sub> (TS)	23.02	26	1.35
AECMS <sub>t</sub> (TS)	27.02	17	1.2

angle of repose (θ), Carr's index (CI) and Hausner's ratio (HR) and the results are summarized in Table 2.

The angles of repose for all the obtained starch derivatives powders were found to be in the range of 27–38°, whereas CI and HR were in the range of 17–38% and 1.2–1.6, respectively. The angle of repose less than 30° indicates excellent flow properties, whereas a value of 56° indicates 'very poor' flow. Particles with high internal friction or cohesion present an increased value of angle of repose. Moreover, CI and HR should be less than 20% and 1.20, respectively, to ensure optimal flowability for powders (Singh et al., 2013). AECMS<sub>t</sub> (TS) showed the lowest angle of repose (27°), Carr's index (17%) and Hausner's ratio (1.2) providing the best micromeritics properties among all derivatives.

### 3.6. Determination of the fluid uptake and erosion

Fluid uptake and erosion tests in SGF and in SIF separately, are shown in Fig. 7I, II. It was noticed that AECMS<sub>t</sub> (TS) has a better ability to absorb SGF fluid and generates a higher swelling compared to CMAES<sub>t</sub> (OS) and CMAES<sub>t</sub> (TS). In SIF, CMAEST (OS) showed higher fluid uptake and hence maintain the integrity of the tablet. On contrary, AECMS<sub>t</sub> (TS) tablets were totally solubilized after 6 h. The erosion of tablets formulated with AECMS<sub>t</sub> (TS) in SGF was lower than that of CMAES<sub>t</sub> (OS) and of CMAES<sub>t</sub> (TS). On other hand, in SIF, the solubility of CMAES<sub>t</sub> (OS) was limited and thus its erosion was slower than that of CMAES<sub>t</sub> (TS) and of AECMS<sub>t</sub> (TS). The radial swelling (diameter changes, mm) of tablets was also observed in SGF and SIF (Fig. 7III, IV). It appeared that CMAES<sub>t</sub> (OS) and CMAES<sub>t</sub> (TS) have almost same swelling in SGF. On contrary, AECMS<sub>t</sub> (TS) showed the lower swelling in SIF, due to its simultaneous higher solubility in SIF. Fig. 8I–III presents the fluid uptake, erosion and diameter changes of tablets containing only the amphotytic starch derivatives (excipient-free) first incubated 2 h in SGF and then moved to SIF. The CMAES<sub>t</sub> (OS) showed the highest ability of fluid uptake (Fig. 8I) with lower erosion pattern (Fig. 8II) due to its limited solubility in SGF and in SIF. Differently, AECMS<sub>t</sub> (TS) showed the lower tendency to swell and higher erosion

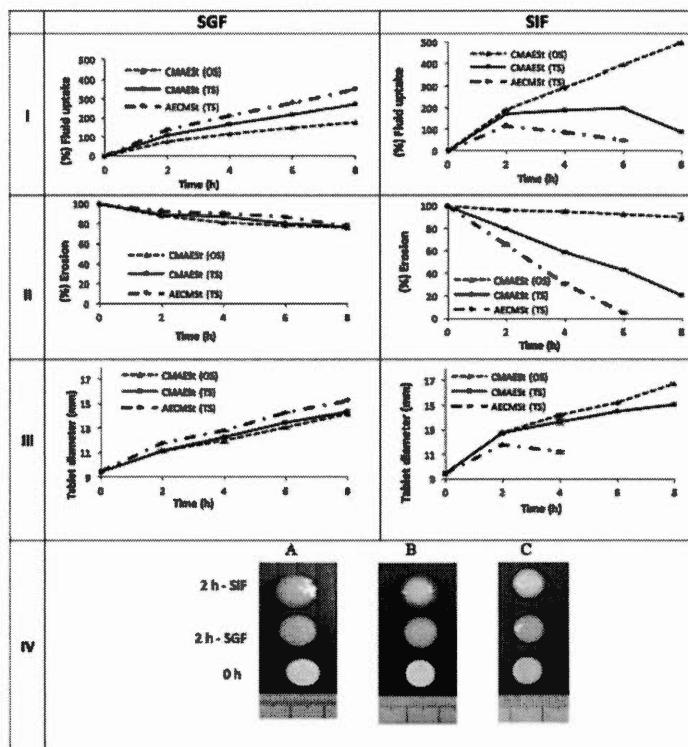


Fig. 7. Fluid uptake (I), erosion (II) and radial tablet swelling (diameter changes) (III) of drug-free tablets formulated with CMAEST (OS), CMAEST (TS) and AECMSt (TS) amphoteric starch excipients in SGF or in SIF. (IV) Photographs of tablets based on CMAEST (OS) (A), CMAEST (TS) (B) and AECMSt (TS) (C) at time zero (0 h, dry phase), after 2 h incubation in SGF and after 2 h in SIF.

behaviour due to its solubility in SIF. The highest fluid uptake and limited erosion for CMAEST (OS) was in accordance with the highest dimension changes (Fig. 8II). CMAEST (OS) presented limited erosion in SGF but when moved to SIF a gel layer was formed on the outer surface of the tablet. Differently, the CMAEST (TS) tablets formed a compact gel in SGF which contributed to keep the integrity of the tablets and prevented further fluid penetration and dissolution of the hydrated gel layer formed on the outer surface of the tablet (Fig. 8, IV) when the tablet moved to SIF. The fluid uptake and erosion reflected well the supposed structures of the amphoteric matrices in function of the processing of derivatization. For instance, the better absorption of SGF by AECMSt (TS) suggests a preferential carboxymethylation (step II) of the AB-groups already grafted in step I to give ABCM or AECM<sub>n</sub> groups, rather than of initial hydroxyl groups of starch. Similarly, for the higher substituted AECMSt (TS), the high SIF uptake can be explained by the external location of carboxylic groups in structure type ACEM and AB(CM)<sub>n</sub> in detriment of amine groups (which would

generate immiscibility in SIF). Thus, for this amphotropic derivative, due to carboxymethylation (step II), there are less primary amine groups but more carboxylic groups, when compared with the CMAEST (OS) and with the CMAEST (TS). This fits the higher reactivity of primary amine groups than that of hydroxyl groups in nucleophilic substitution type SN1. Furthermore, it is also expected, during the first derivatization with chloroethylamine starch, to have a continuation of substitution at level of primary amine groups to generate secondary and tertiary aminations, with a pattern of limited dendrimer which may be controlled by the ratio of chloroethylamine starch. Moreover, irrespective of the type of amination, each graft will present primary amine groups that are susceptible to the first carboxymethylation step. Details of this process will be dealt with in another report.

### 3.9. In vitro dissolution tests

Amphotropic starch excipients were tested in terms of controlled drug

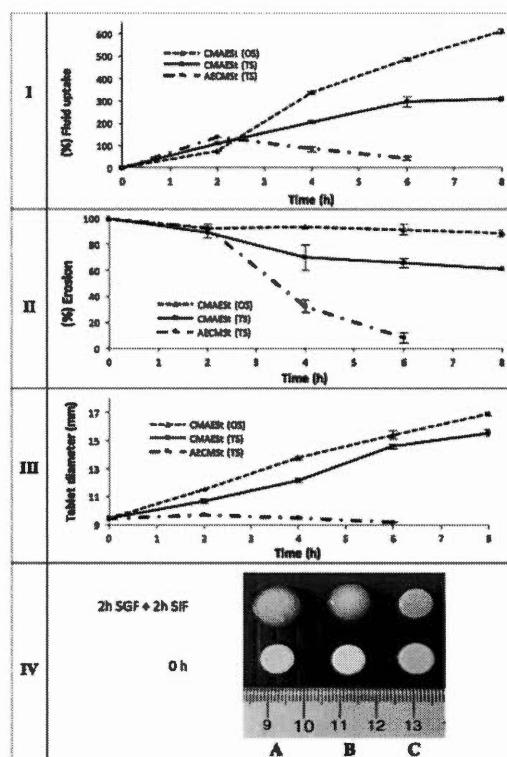


Fig. 8. Fluid uptake (I), erosion (II) and tablet width swelling (III) of a drug-free tablet formulated with CMAER (OS), CMAER (TS) and ABCMER (TS) as a matrix forming suspensions incubated 2 h in SGF and then in SIF for 6 h. (IV) Photomicrographs of tablets formulated with CMAER (OS) (A), CMAER (TS) (B) and ABCMER (TS) (C) after incubation for 2 h in SGF and then for another 2 h in SIF.

release from high loaded formulations. Monolithic tablets with various drug loading (60%) were prepared and the dissolution patterns were first followed in SGF and SIF separately (Fig. 9). To find out the effect of drug properties on the behavior of ampholytic starch excipients, four tracers with different characteristics: ASA (acidic drug), metformin (basic drug), mesalamine (amphoteric drug), or acetaminophen (neutral drug) were selected to be formulated by direct compression of mixed powders directly with each ampholytic starch excipients and further evaluated for dissolution behaviour. Aspirin is an acetyl derivative of salicylic acid, with an acid dissociation constant  $pKa$  3.5 at 25 °C (Dessaint et al., 2012; Suvashy et al., 2013). Metformin (Table 3) has acid dissociation constant values  $pKa$  of 2.8 and 11.5 and

exists very largely as cationic species (hydrophilic chloride hydrate) at physiological pH values. The metformin  $pKa$  values make metformin a stronger base than most other basic drugs (Desai et al., 2014). Mesalamine (5-ASA) exhibits amphoteric properties (Table 3); its solubility increases at acidic pH values ( $pH < 3$ ) in the stomach and at more alkaline values ( $pH > 5.5$ ) in the lower part of the small intestine (French and Mäger, 1993). Acetaminophen, an extensively conjugated system, consists of a benzene ring substituted by one hydroxyl group and an amide group in the para position (1,4). The conjugation greatly reduces the basicity of the nitrogen while masking the hydroxyl acidic through delocalization of charge developed on the phenoxide carbon (Kukkainen et al., 2017) (Table 3). The cumulative ASA release from

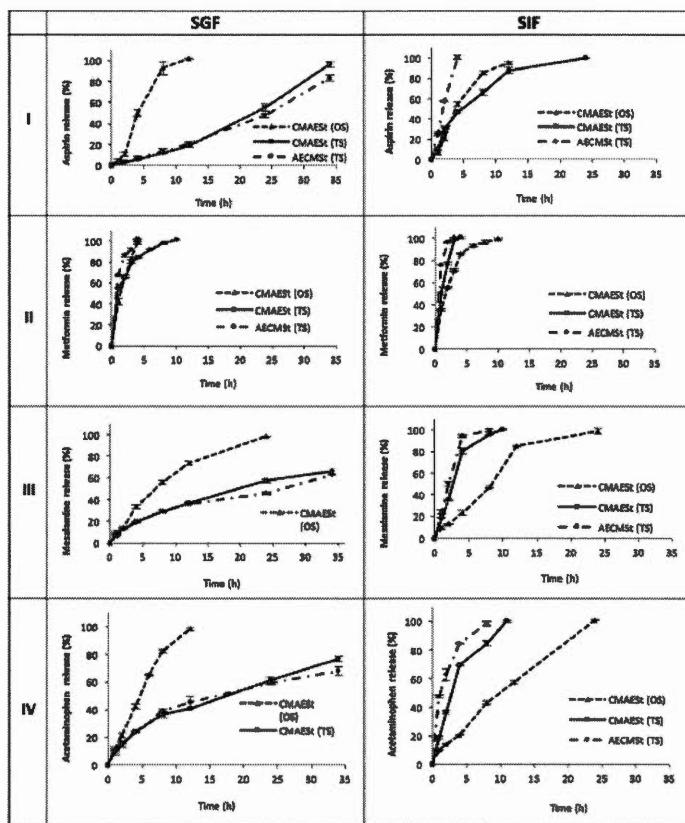


Fig. 9. Release profiles of Aspirin (A), Metformin (M), Mesalamine (III) and Acetaminophen (IV) in SGF or in SIF from tablets (60% loading) formulated with CMAES (OS), CMAES (TS) and ABCMS (TS) as matrix forming polymers.

tables in SGF and in SIF are shown in Fig. 9, I. Both CMAES (TS) and ABCMS (TS) derivatives were able to control the release of ASA in SGF, where 55% of ASA was released within 24 h by tablets of CMAES (TS) and 47% of ASA released by ABCMS (TS). In SIF only CMAES (TS) was able to prolong the release of ASA for more than 12 h. The Fig. 9, II shows the release of metformin in SGF and in SIF.

Controlling the release of metformin is still a challenge for formulator due to its high solubility and aqueous solution pH 1.2–6.8 (Desai et al., 2014). Because of its short half-life (< 3 h), frequent administrations of high dosages (up to 2.5 g daily) are needed to maintain its required plasma concentration (Garber et al., 1997; Stepaneky et al., 2001; Qin et al., 2014). It was found with our amorphous starch that

9.2% of metformin was released within 6 h in SGF from tablets contained CMAES (TS) as matrix forming excipient, whereas 9.3% was liberated within 6 h SIF from CMAES (OS). The release of mesalamine in SGF and SIF is presented in Fig. 9, III. In SGF, all amorphous starch polymers were able to prolong the release of mesalamine over 12 h. In SIF only CMAES (OS) and CMAES (TS) prolonged the release of mesalamine to 10 h. Fig. 9, IV shows the release of acetaminophen in both SGF and SIF. In SGF, CMAES (TS) and ABCMS (TS) sustained the release of acetaminophen with 61.6% liberated from tablets of CMAES (TS) and 59.3% acetaminophen liberated from tablets of ABCMS (TS) within 24 h. In SIF CMAES (OS) released 57.75% of acetaminophen within 12 h, while CMAES (TS) released 84.5% of acetaminophen

Table 3  
Structures of bioactive molecules in neutral, SGF, and SIF media.

	Structure	SGF	SIF
Aspirin		 7.01 mg/mL	 48.0 mg/mL
Solubility Metformin		 300 mg/mL	 300 mg/mL
Solubility Mesalamine		 16.2 mg/mL	 8.4 mg/mL
Solubility Acetaminophen		 20.3 mg/mL	 20.3 mg/mL
Solubility			

within 8 h. In conclusion CMAES<sub>t</sub> (OS) was able to control the release of amphoteric or neutral drugs only in SIF. From the polymers prepared in two steps procedure either CMAES<sub>t</sub> (TS) or AECMSt (TS) was able to sustain the release of acidic, amphoteric, or neutral drugs in SGF. Differently in SIF, CMAES<sub>t</sub> (TS) were able to better control the release of medication in comparison with ABCMS<sub>t</sub> (TS). Furthermore, to find out the impact of whole gastrointestinal tract (GIT) on the polymeric matrices, the tablets were first exposed to SGF for 2 h and then transferred to SIF at the same condition of dissolution test (Fig. 10). The release profiles showed that all amphotrophic starch excipients were able to control the release of acidic, basic and neutral drugs at high loading (60%). In case of ASA and acetaminophen, all amphotrophic starch derivatives showed similar behaviour in controlling the release of active principles (Fig. 10, Table 4). For metformin only the CMAES<sub>t</sub> (TS) was able to slower the release for a duration up to 6 h. The ability of CMAES<sub>t</sub> (TS) to prolong the release of metformin could be correlated with the higher DS of CM groups, 0.041 compared with DS 0.024 for CM groups in CMAES<sub>t</sub> (OS) and DS 0.028 of ABCMS<sub>t</sub> (TS). Another explanation may be the formation of a kind of internal stabilization between carboxylic groups and the amine groups of amphotrophic matrix. This is less probable in term of ABCMS<sub>t</sub> (TS), where carboxyl groups are probably lower in peripheral layer and less accessible form complex. Evaluation of the release profile of metformin from tablets loaded on CMAES<sub>t</sub> (TS) prepared at different DS of CM or AB groups recently published (Saleem et al., 2017b), showed that CMAES<sub>t</sub> (TS) at higher DS of both CM and AB can modulate the release of metformin up to 12 h (Saleem et al., 2017b). In case of Mesalamine, CMAES<sub>t</sub> (OS) exhibits less variability with media changes compared with the other two derivatives synthesized via TS procedure. Knowing that Mesalamine is a zwitterionic molecule carrying amino and carboxylic groups (Table 3) that will be ionized in SGF and SIF and potential drug-polymer ionic interactions can occur either with CM or AB ionized groups.

This could explain similar release profiles irrespective to the media changes (Fig. 10, Table 4). Same rationale seems not be applicable for CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS) derivatives obtained by the two steps procedure. It is worth to note that both TS derivatives were more substituted (one for CM and the other for AB) compared with OS

derivative when the DS for the two groups were close each other and this is reflected in higher Zeta potential values. Less control observed when tablets were exposed to SIF only (6 h and respectively 3 h) could be explained by repulsive forces between mesalamine and charged derivatives. The 90% drug release times were in line with the solubility data of the active principles. For instance the shortest release time was found for metformin which presents the highest solubility (Table 3), whereas long release times (28–30 h) were found for mesalamine and aspirin which both present relatively low solubility. For acetaminophen, intermediate release time 16–22 h fitted well its solubility in gastric and in intestinal fluids. Although relatively fast in comparison with the release of acetaminophen, aspirin and mesalamine, the release time of 5.5 h for metformin seems adequate for this medication to be liberated in the intestinal tract including the colon from monolithic tablets obtained with CMAES<sub>t</sub> (TS). The release kinetics of the four tracers in SGF and in SIF was evaluated based on the equations presented in Table 1 S, where  $Q_t$  in equations A–C and E is the amount of the drug released at time  $t$ ,  $Q_0$  in equation D is the amount of drug remaining in pharmaceutical dosage form at time  $t$  and  $Q_0$  is the initial amount of drug in the pharmaceutical dosage forms. The  $K_0$ ,  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ,  $K_4$  are respectively the zero-order, first-order, Higuchi's, Hixson-Crowell's, Korsmeyer-Peppas release rate constants and  $n$  is the release exponent. If the  $n$  value is 0.5 or less, the release mechanism follows a Fickian diffusion, whereas at higher values for mass transfer in the range  $0.5 < n < 1$ , the system will follow a non-Fickian model (anomalous transport). The system follows a zero-order drug release and a case-II transport if the  $n$  value is equal to 1. Here the relaxation process of the macromolecules occurring upon water imbibition into the system is the rate-controlling step. For the values of a higher than 1, the mechanism of drug release is regarded as super case-II transport (Korsmeyer et al., 1983).

The kinetic release profiles of ASA in SGF and in SIF for all polymers was fitting zero order model and first order model respectively, with the Korsmeyer's release exponent  $n > 0.5$  which can be related to case-II transport Table 1 S. Due to the high loading (60%) and solubility of metformin, the proposed polymeric excipients were not able to prolong the release of metformin for a duration longer than the commercial products (Saleem et al., 2017b).

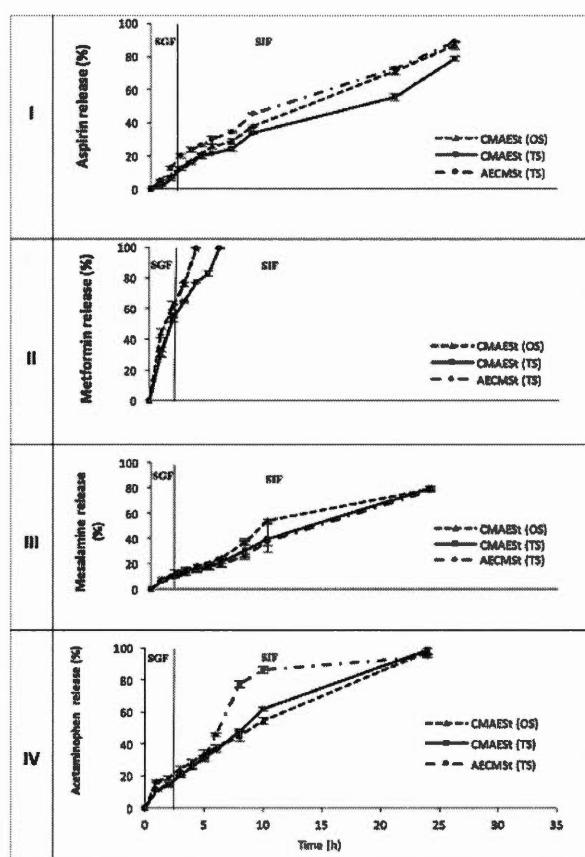


Fig. 10. Release profiles of Aspirin (I), Metformin (II), Mescaline (III) and Acetaminophen (IV) from tablets (60% loading) formulated with CMAESr (OS), CMAESr (TS) and AECMsr (TS) as matrix-forming polymers followed for 2 h in SGF and then transferred to SIF.

Table 4  
Time (h) of 90% drug release from mono-lithic tablets containing ampholytic starch derivatives as matrix-forming agents in SGF, SIF and SGF followed by SIF.

Active molecule	CMAESr (OS)			CMAESr (TS)			AECMsr (TS)		
	SGF	SIF	SGF + SIF	SGF	SIF	SGF + SIF	SGF	SIF	SGF + SIF
Aspirin	8 h	12 h	20 h	33 h	17 h	33 h	> 35 h	3.8 h	30 h
Metformin	3.5 h	6 h	3.5 h	3.5 h	2 h	5.5 h	3 h	1.5 h	3.5 h
Mescaline	19.5 h	20 h	20 h	> 35 h (60%)	6 h	28 h	> 35 h (60%)	3 h	28 h
Acetaminophen	10 h	21 h	22 h	> 35 h (70%)	10 h	23 h	> 35 h (70%)	7 h	16 h

**Table 5**  
Kinetic parameters of Aspirin (i), Metformin (ii), Mesalamine (iii), and acetaminophen (iv) from tablets (60% loading) formulated with CMAES<sub>t</sub> (OS) (I), CMAES<sub>t</sub> (TS) (II) and AECMS<sub>t</sub> (TS) (III) as a matrix forming excipients in SGF then transferred to SIF.

Do-sage forms	Kinetic analysis											
	A		B		C		D		E			
	K <sub>a</sub>	r <sup>2</sup>	K <sub>1</sub>	r <sup>2</sup>	K <sub>2t</sub>	r <sup>2</sup>	K <sub>a</sub>	r <sup>2</sup>	s	KP	r <sup>2</sup>	
I	i	0.06	0.993	-0.008	0.990	1.69	0.96	0.004	0.992	0.95	0.14	0.97
	ii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	iii	0.05	0.99	0.006	0.992	0.018	0.993	0.022	0.96	0.95	0.60	0.98
	iv	0.05	0.990	-0.001	0.988	1.9	0.96	0.023	0.98	0.89	1.81	0.93
II	i	0.078	0.989	-0.009	0.993	1.9	0.993	0.036	0.997	1.15	0.5	0.96
	ii	0.21	0.95	-0.005	0.99	5.5	0.98	0.026	0.99	0.55	2.8	0.25
	iii	0.058	0.993	-0.006	0.979	1.26	0.98	0.022	0.98	0.79	0.65	0.96
	iv	0.06	0.95	-0.002	0.990	2.3	0.96	0.023	0.992	0.81	0.58	0.96
III	i	0.044	0.97	-0.009	0.95	2.2	0.98	0.025	0.99	0.79	0.78	0.97
	ii	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	iii	0.052	0.994	-0.005	0.997	1.14	0.997	0.022	0.96	0.79	0.41	0.97
	iv	0.06	0.71	-0.001	0.885	2.7	0.85	0.024	0.97	0.98	3.13	0.98

The kinetic equation was applied only for CMAES<sub>t</sub> (OS) in SIF and for CMAES<sub>t</sub> (TS) in SGF. In both cases the drug release was fitting the first order model with the Korsmeyer's release exponent n close to 0.5 suggesting that the release is matching non-Fickian model (anomalous transport). The release of mesalamine was following different models in different dissolution media. The Korsmeyer's release exponent n was close to 0.5 in SGF indicating that the system fits well to Fickian diffusion. In SIF, n values were close to 1 (Table 1S) matching to non-Fickian model (anomalous transport). CMAES<sub>t</sub> (TS) was able to control the release of acetaminophen in SGF and in SIF and the release was fitting first order model in both media. CMAES<sub>t</sub> (OS) was able to prolong the release of acetaminophen only in SIF. Differently, AECMS<sub>t</sub> (TS) sustained the release of acetaminophen in SGF. The value of release exponent n was greater than 0.5 fitting non-Fickian models (anomalous transport). When the dissolution was conducted in simulating GIT transit (SGF for 2 h then followed by SIF), the ASA showed different release kinetics, with n between 0.5-1 (Table 5) indicating a non-Fickian model (anomalous transport). Metformin and mesalamine followed first order kinetics and zero order with between 0.5-1 indicating anomalous transport which means that both swelling and diffusion are going together (Table 5). Acetaminophen followed a zero order for CMAES<sub>t</sub> (OS) and Hixson-Crowell's order for both CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS) with between 0.5-1 indicating to anomalous transport of active ingredient. Therefore, interesting to note is that using the same reagents and changing only the order of their addition in the reaction, produced compounds with different properties. Thus, the amphotropic starch from one step CMAES<sub>t</sub> (OS) was able to control the release of acidic, amphoteric and neutral medication in SIF, whereas the polymers obtained from two steps method CMAES<sub>t</sub> (TS) and AECMS<sub>t</sub> (TS) were able to sustain the release of same tracers also in SGF. When the dissolution was done first in SGF then followed by SIF, all amphotropic starch showed an ability to prolong the release of high loading medications (60%) for up to 24 h. Self-stabilization of amphotropic starch CMAES<sub>t</sub> (OS) could be explained by the limited solubility of the polymer in SGF. The carboxylic groups are compacted following modulation protonation and amino groups may form stable macromolecular gels, lowering the solubility. In SIF the higher swelling ability and lower chain flexibility (as supported by viscosity measurement) and limited solubility of CMAES<sub>t</sub> (OS) are key factors of controlling the release of medications. Moreover, a polyelectrolyte complexation between the anionic CM- and cationic AE-groups located on neighboring chains, may also contribute to CMAES<sub>t</sub> (OS) gel formation and stabilization. On other hand, self-stabilization of amphotropic starch CMAES<sub>t</sub> (TS) could be explained by protonation of CM groups and generating an outer gel layer by hydration of AE groups in SGF. In SIF, the compacted gel layer generated in SGF alongside with limited

solubility of AE, forming a barrier toward further penetration of intestinal fluid inside the gel layer, lowered the erosion and solubilization of outer gelled layer surface. Consequently, the tablet integrity is maintained prolonging the release of the active ingredients from the dosage form. Another aspect which could contribute to starch amphotropic derivatives behavior is the repartition of ionic charges on the starch backbone which would be more uniform in case of OS synthesis compared with TS procedure. It should be noticed that for TS an intermediate precipitation of the first derivative was done prior to introduction of the second functional group. This might influence the arrangements of chains which will be stabilized by self-assembling (polymer-polymer ionic interactions). This may impact the surface exposure for further interactions (introduction of the second ionic group, polymer-drug interactions, etc).

#### 4. Conclusion

The presence of the two groups on the same macromolecular backbone will generate a beneficial effect for the usage of such amphotropic starch polymers as excipients for the challenging formulation of drugs with high loading affording the controlled release of APIs during the transit along the gastrointestinal tract. The proposed new starch derivatives offer a wide range of applications where the polymer-polymer or polymer-drug self-assembling via electrostatic interactions are able to control the drug release at high loading of active molecules, even for particularly challenging APIs as mesalamine and as metformin. Further studies are going on CMAES<sub>t</sub> (OS), at different DS of CM or AE groups in order to determine the position of CM, AE, EACM or EADCM on starch backbone chain and for elucidation of contribution of starch morphological aspects.

#### Acknowledgment

The financial support from NSERC (Natural Science and Engineering Research Council) of Canada (Discovery Program) is gratefully acknowledged.

#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary material related to this article can be found, in the online version, at doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.005>

#### References

Aji, Alex, M.R., Nehru, C., Veeranna, G., Kumar, D.S., Kalishreetha, R., Koul, V., 2017. Self assembled dual responsive micselles stabilized with protein for delivery

- of drug and siRNA in cancer therapy. *Bioconjugate Chem.* 23, 94–106.
- Amaral, R., Azogui, A., Chaitanya, R., Goldstein, N., Putter, F., Prastwend, J., Lammens-Milà, D., Peix, D., Kort, J., 2014. Quantitated starch-based carriers for siRNA delivery from cellular uptake to gene silencing. *J. Controlled Relat.* 185, 120–126.
- Ansari, K., Wang, Y.J., Zhu, X.X., Matsumura, M.A., 2011. Poly(ethylene glycol) complex of carbonyl methyl starch and chitosan as drug carrier for oral administration. *Carbohydr. Polym.* 84, 1099–1107.
- Calvino, C., Gómez, J., Gómez, J.M., Pachón, J.M., Pachón, J.M., Matsumura, M.A., 2005. Carbonylmethyl high amylose starch (CMA-HAS) as excipient for ibuprofen oral formulations. *Eur. J. Pharm.* 489, 63–69.
- Calvino, C., Niederau, J., Pachón, J.M., Matsumura, M.A., 2007. Carbonylmethyl high amylose starch for *in vivo* furosemide resistance oral formulation. *Int. J. Pharm.* 343, 18–25.
- Carr, R., 1965. Dissolving flow properties of solids. *Chem. Eng. Res.* 72, 163–165.
- Chen, Y., Chen, Y.W., Li, H.S., Lee, H., Kim, W., Li, Z.H., Kim, Y.T., Baik, M.Y., 2010. Pharmaceutical properties of crosslinked and non-crosslinked starches prepared under ultra high pressure. *Carbohydr. Polym.* 89, 395–399.
- Guan, P., Souza-Lobo, J.M., 2001. Modeling and computation of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm.* 413, 125–133.
- Dong, D., Wang, B., Shang, Y., Yu, Q., Yang, X., Guo, H., Huang, M., Yemini, E., 2014. Guanidinium-mediated dissolution of metformin hydrochloride tablets: wetting efficiency versus ion pair affinity. *J. Pharm. Sci.* 103, 329–336.
- Dressman, J.B., Man, A., Abramson, B., Berend, D.M., Gross, D.W., Kopp, S., Langguth, P., Peik, J.R., Shah, V.P., Zimmerman, M., 2012. Tensioner monograph for tensioner solid dosage forms: acetylpromazine HCl and. *J. Pharm. Sci.* 101, 4623–4647.
- Freud, D.L., Mauger, J.W., 1992. Evaluation of the pharmaceutical properties and dissolution characteristics of Metformin: relevance to controlled intestinal drug delivery. *Pharm. Res.* 10, 1285–1290.
- Fritz, M., Le Tien, C., Ispas-Groble, P., Matsumura, M.A., 2013. Carbonylmethyl starch and lactose complex as excipients for targeted drug delivery. I. Monodispersed metastable forms for colonic delivery. *Eur. J. Pharm.* 685, 521–530.
- Gao, C., Wu, W., Lin, X., Dong, J., Huang, X., Wu, H., 2011. Preparation of nano-sized folic acid-modified starch: acetylpromazine HCl and. *J. Pharm. Sci.* 101, 1413–1418.
- Ganter, M., Alan, J., Duncan, M., Theodore, G., Goodman, M., Azizi, M., Mills, R., Diana, J., Rohlf, M., Jane, L., 1997. Efficacy of mesalamine in type II diabetes: results of a double-blind, placebo-controlled, dose-response trial. *Am. J. Med.* 102, 491–497.
- Hauschild, H.E., 1967. Friction conditions in a mass of metal powder. *Int. J. Powder Metall.* 2, 7–10.
- Hayashi, R., Imai, Y., Kaneko, K., Shimomura, T., Payne, S., Nakamura, M., Uematsu, H., 2017. Surface-modified drug carrier: comparison of formation-dependent physicochemical properties within self-assembled aggregates for an optimal drug carrier. *Colloid Surf. B: Biointerfaces* 152, 269–276.
- Higuchi, T., 1964. Rate of release of medicaments from tablet bases containing drugs in suspension. *J. Pharm. Sci.* 53, 874–875.
- Higuchi, T., 1967. Mathematical analysis of drug diffusion in tablet matrices. Theoretical analysis of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.* 52, 11–15, 14–19.
- Hirose, P.S., Soho, R.M., 2008. Controlled release hydrophilic matrix tablet formulations of PEG 400: design and in vitro studies. *AAPS Pharmacotech* 9, 1371–1374.
- Huang, A.W., Crossell, J.J., 1981. Dependence of reaction velocity upon surface and agglomerate size. *Ind. Eng. Chem.* 73, 923–931.
- Ispas-Groble, P., Matsumura, M.A., 2012. Carbonylmethyl starch excipients for drug bioavailability. *AAPS Pharmacotech* 13, 1675–1682.
- Ispas-Groble, P., Sasseville, E., Hamann, I., Peña, M., Matsumura, M.A., 1994. Structure–property relationships in cross-linked high amylose starch for use in controlled drug delivery. *Carbohydr. Res.* 223, 160–171.
- Ishikawa, T.O., Kestrel, M., Vedamalai, K., Ishikawa, M.J., Cervini, A., Kestrel, H.A., Bruno, I.M., Hirvonen, J., Hopkins, J., Groves, S.M., Cameron, D.C., Rinaldi, M., Lando, J., 2013. Effect of degree of substitution of carboxymethyl particles by atomic layer deposition. *J. Pharm.* 335, 160–174.
- Kang, J., Singh, J., Lin, Q., 2007. Starch – a potential biomaterial for biomedical applications. In: Matsumura, M.A. (Ed.), *Nanocarriers and Nanomaterials for Biomedical Applications*. Springer, Netherlands, pp. 93–98.
- Korstanje, R.W., Gurur, A., Endreß, E., Buri, P., Pippert, M.A., 1992. Mechanism of drug release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* 15, 25–35.
- Kim, W.Y., Kim, S., 2010. Preparation and morphology of eudragit E100-starch. *Carbohydr. Polym.* 83, 548–553.
- Lamprecht, C., Hinterdorfer, P., Kneissl, A., 2014. Applications of nanosizing atomic force microscopy in monitoring drug and nanoparticle delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 11, 1237–1253.
- Leibler, J., Basant, J., Putter, A., Verma, K., Brune, S., Matsumura, M.A., 2008. Separation of chitosan oligomers by immobilized metal affinity chromatography. *J. Chromatogr. A* 1194, 146–151.
- Le Tien, C., Ispas-Groble, P., Matsumura, M.A., 2009. N-Acylated chitosan hydrophilic matrices for controlled drug release. *J. Controlled Relat.* 92, 1–43.
- Leibner, K., Perisic, L., Khurana, R., Bhandarkar, J., Zamzakaria, A., 2013. Structural characteristics and flocculation properties of amorphous starch. *Colloid Surf. A* 460, 98–106.
- Lemire, M., Gómez, P., Matsumura, M.A., 2009. Carbonylmethyl high amylose starch as excipient for controlled drug release: mechanistic study and the influence of degree of substitution. *Int. J. Pharm.* 382, 172–182.
- Lemire, M., Gómez, P., Matsumura, M.A., 2014. Influence of drying procedure and of low degree of substitution on the mechanical and drug release properties of carbonylmethyl starch. *AAPS Pharmacotech* 11, 775–785.
- Lemire, M., Matsumura, M.A., 2014. Crosslinked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances. *J. Controlled Relat.* 153, 225–234.
- Li, X., Guo, W., Huang, L., Wang, Y., Huang, L., Lin, C., 2010. Preparation and physicochemical properties of carbonylmethyl furalin amylase modified starch. *Carbohydr. Polym.* 81, 701–707.
- Lin, Q., Oyan, S., Li, C., Peña, H., Wu, Z., Liu, Q., 2012. Synthesis, rheological and swelling performance of chitosan/starch. *Carbohydr. Polym.* 92, 275–282.
- Matsumura, M.A., Ispas-Groble, P., Matsumura, M.A., 2006. Chitosan-modified starch derivatives for high loaded pharmaceutical formulation. *Polymerases for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*. ACS symposium.
- Mell, G.P., Whetstone, J.M., Hamnerius, F.M., 1968. Purification of diphosphate starches and their conversion to starch. *J. Biol. Chem.* 243, 6076–6079.
- Munoz, J., Iglesias-García, P., Lemire, M., Matsumura, M.A., 2011. Cross-linked high amylose starch derivatives as matrices for enzyme-loaded tablets of high drug loading. *J. Controlled Relat.* 153, 197–207.
- Namazi, H., Faridi, F., Odehadi, A., 2011. Hydrophobically modified starch using long-chain fatty acids for preparation of nano-sized starch particles. *Sci. Iran.* 18, 639–645.
- Naga, M., Ellinger, D., Redl, W., Wagner, G., Reithner, A., 2012. Controlled release of ibuprofen from crosslinked hydroxyethyl starch. *Carbohydr. Polym.* 89, 102–107.
- Oliver, R.S., Ogle, C.R., 1940. Drug release through aqueous-laser film coatings of acrylate-starch-acrylate. *J. Controlled Relat.* 139, 73–103.
- Peek, J., 2013. Oral release through aqueous-laser film coatings of acrylate-starch-acrylate. *Int. J. Pharm.* 460, 69–72.
- Patt-Gadde, A., Polkher, V., 2014. Single step spray drying method to develop pro-polymers for inhalation: a systematic study based on quality by design approach. *Polym. Pharm.* 7, 197–207.
- Peng, M., Zhang, S., Liu, Q., Yan, X., Liang, Z., Yang, M., Yin, G., Lin, Q., He, H., 2016. Removal of heavy metals and sulfate contaminants by amorphous starch. *Carbohydr. Polym.* 136, 210–216.
- Pi-Xia, W., Hua-Li, W., Xie, G., Xu, K., Tang, Y., Du, X., Li, W., 2009. Preparation and characterization of eudragit e100 starch with a high degree of substitution in dioxane-TBEP-water media. *Carbohydr. Res.* 364, 481–485.
- Pohl, M., Amador, D., De Yon, K., Peng, T., Gossen, M.F.A., 1994. Controlled release of ibuprofen from crosslinked hydroxyethyl starch. *Arch. Pharm.* 333, 178–180.
- Qiao, C., Wu, W., Zhao, C., Wu, M., Wu, Z., Zhang, Q., Wang, G., Wu, L., 2014. Controlled release of metformin hydrochloride and voglibose from nanohydrogel composite granules. *Int. J. Pharm.* 464, 276–285.
- Ramrakha, S., Pham, S., Santiago, K.S., Läwärangtrakul, K., Wallace, G.G., 2012. Extrusion primed polymer structures: a facile and versatile approach to tailored drug delivery platforms. *Int. J. Pharm.* 432, 260–263.
- Sakurai, K., Al-Zein, H., Hama, I., Saito, M., Nohkoshi, A., 2008a. Enhancement of dissolution of antibiotics from biocompatible tablets containing various surfactants as a solid dispersion formulation. *Arch. Pharm.* 373, 1771–1779.
- Sakurai, K., Al-Zein, H., Hama, I., Martin, G.R., Nohkoshi, A., 2010b. Use of xanthan and its binary blends with synthetic polymers to design controlled-release formulations of biocompatible neomycin tablets. *Pharm. Dev. Technol.* 15, 260–268.
- Sakurai, K., Ispas-Groble, P., Matsumura, M.A., 2017a. Self-standing amorphous starch. *AAPS Pharmacotech* 3, 1–5.
- Sakurai, K., Serrata, H., Ispas-Groble, P., Matsumura, M.A., 2017a. Starch materials as biocompatible supports and procedure for fast separation of macrophages. *Carbohydr. Polym.* 163, 108–117.
- Santos, M., Matsumura, M.A., 2018. Dependence of reaction velocity upon surface and aggregation. *Ind. Eng. Chem.* 110, 923–931.
- Santos, M., Matsumura, M.A., 2019. Dependence of macroscopic characteristics on the volume of 5-hydroxy-β-xylose. *J. Pharm. Eng.* 9, 682–687.
- Shah, R.S., Zamzakaria, A., Khan, M.A., 2004. Comparative evaluation of flow for pharmaceutical granules and granules. *AAPS Pharmacotech* 9, 280–289.
- Shen, Y., Jing, W., Brueghel, W., Wu, W., 2006. Effect of degree of substitution on adsorption behavior of basic drug 4 by highly crosslinked amorphous starch with quaternary ammonium and carbonyl groups. *Carbohydr. Polym.* 65, 53–59.
- Singh, S., Jaiswal, R.K., 2013. Effect of degree of substitution on starch. *Carbohydr. Polym.* 93, 10–20.
- Sousa, J.M., Colino, A., Tokell, S.H., Molina, J., Serrata, S.P., Fernández, R., Zlate, A., 2014. Properties and controlled release of chitosan macromonosubstituted linoleic oil. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 24, 691–697.
- Stepanyan, D., Friedman, M., Seier, W., Rett, L., Hoffman, A., 2001. Predictive evaluation of pharmaceutical polymers—physicochemical rationale for oral CR metformin formulation. *J. Controlled Relat.* 78, 103–113.
- Stepanyan, D., Israely, K., Antonsen, S., Lechner, M.D., 2000a. A comparison of some methods for the determination of the degree of substitution of carbonylmethyl starch. *Starch – Stärke* 52, 79–81.
- Suzuki, M., Ichiba, J., Villaran, P., Gillard, M.J., Jiménez-Santos, M., Sternika, K., 2015. Acryloylmethyl methacrylate (AMM) and acrylic acid interaction with the human erythrocyte membrane bilayer induce an altered changes in the morphology of erythrocytes. *J. Controlled Relat.* 200, 1–10.
- Suzuki, M., Ichiba, K., Jiménez-Santos, M., Sternika, M., Lechner, M., Gillard, M., Lando, J., Watanayoshi, P., 2016. Incorporation of curcumin in poly(ethylene oxide)-starch and their neuroprotective activity. *Nanomedicine* 27, 325–331.
- Suzuki, M., Ichiba, K., Jiménez-Santos, M., Sternika, M., Lechner, M., Gillard, M., Lando, J., Watanayoshi, P., 2016. Formation of oil-filled nanoparticles with silica shell by sequential adsorption of poly(ethylene oxide). *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 441, 483–489.
- Tiwari, A., Hiltner, L.H., 2009. Thermal stability and rheological studies on allantoic ester casting: part I—settling strength parameters. *Polym. Engin. Sci.* 49,

- 1788–1791.
- Tiwari, A., Hansen, L.H., 2012. Deciphering the inter-atmospheric degradation patterns in hybrid silicones. *Polym. Degrad. Stab.* 97, 1623–1629.
- Up, 2015. US Pharmacopeia 39, National Formulary 34 U.S.P. Electronic version. United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD, USA. <http://www.usp.org/sites/default/files/cnp/39-34/nationalformularysearchXFC/afden.pdf>.
- Vishnudas, V., Annasari, L., Venkateswaran, D., Li, H., Yang, Y., Reunanen, J.P., Verstraete, C., 2016. Evaluation of various types and modes of controlled release formulations with various MPAC gels. *Int. J. Pharm.* 511, 1048–1057.
- Wang, L., Pan, S., Hu, H., Suo, M., Xu, K., 2010. Synthesis and properties of carboxymethyl laundry starch starch. *Carbohydr. Polym.* 80, 174–179.
- Wongsuprasert, R., Shobangob, S., Oonphuksom, R., Voramit, S., 2005a. Zeta potential ( $\zeta$ ) analysis for the determination of protein content in rice flour. *Starch - Stärke* 57, 25–31.
- Wongsuprasert, R., Shobangob, S., Oonphuksom, R., Voramit, S., 2005b. Zeta potential ( $\zeta$ ) and pasting properties of phosphorylated or crosslinked rice starch. *Starch - Stärke* 57, 33–37.
- Xie, G.-A., Feng, S., Deng, Q., Wang, J.-H., Youlan, A., 2008. Removal of Pb (II) by crosslinked amphiphilic starch containing the carboxymethyl group. *Carbohydr. Polym.* 76, 369–376.
- Yan, J., Su, T., Cheng, F., Cao, J., Zhuang, H., He, R., 2017. Multifunctional nanoparticles self-assembled from polyphenolamine-based graft polymers as efficient anticancer drug delivery. *Colloid Surf. B: Biointerfaces* 126, 116–127.
- Yang, Z., Chen, M., Yang, M., Chen, J., Fang, W., Xu, P., 2014a. Evaluating the potential of chitosan nanoparticles for oral delivery of amphotericin B in treating fungal infection. *Int. J. Nanomed.* 9, 329–337.
- Yang, Z., Wu, H., Yuan, R., Wang, M., Yang, H.-L., Ai, R., Jia, J., Cheng, R., 2014b. Preparation of novel starch-starch grafting biopolymers for flocculation of both positively and negatively charged colloidal contaminants from water. *Chem. Eng. J.* 244, 200–217.
- Yang, Z., Yuan, B., Li, H., Yang, Y., Yang, H., Li, S., Cheng, R., 2014c. Amphiphilic starch-based flocculants can flocculate different contaminants with even opposite surface charges via a surface structure control. *Colloid Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 452, 20–26.
- Zhang, R., Yao, H., Wei, H., Ai, Z., Xu, X., Tian, Y., 2014. Characterization of different substituted carboxymethyl starch oligosaccharides and their interaction with lysozyme. *Polym. Chem.* 5, e134634.

## BIBLIOGRAPHIE

- Adibkia, K., Ghanbarzadeh, S., Mohammadi, G., Khiavi, H. Z., Sabzevari, A. et Barzegar-Jalali, M. (2014). Drug release kinetic analysis and prediction of release data via polymer molecular weight in sustained release diltiazem matrices. *Drug Res (Stuttg)*, 64, 118-123.
- Ali, M. et Byrne, M. E. (2009). Controlled release of high molecular weight hyaluronic Acid from molecularly imprinted hydrogel contact lenses. *Pharm Res*, 26, 714-726.
- Allen, T. M. et Cullis, P. R. (2004). Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*, 303, 1818-1822.
- Amar-Lewis, E., Azagury, A., Chintakunta, R., Goldbart, R., Traitel, T., Prestwood, J., ... Kost, J. (2014). Quaternized starch-based carrier for siRNA delivery: from cellular uptake to gene silencing. *J Control Release*, 185, 109-120.
- 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, 1713-1728.
- 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, 1399-1407.
- Bao, Z., Han, T., Benxi, W., Zhengyu, J., Xueming, X., Yaoqi, T. (2015). Correction: Characterization of different substituted carboxymethyl starch microgels and their interactions with lysozyme. *Plos one*, 10, 89-95.
- Blémur, L. (2014). *Microsphères de carboxyméthylamidon : alginat pour la livraison intestinale de la diamine oxydase*. Université du Québec à Montréal. (M13645)

- Blemlur, 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, 344-353.
- Bodratti, A. M. et Alexandridis, P. (2018). Amphiphilic block copolymers in drug delivery: advances in formulation structure and performance. *Expert Opin Drug Deliv*, 15, 1085-1104.
- Botrel, D. A., de Barros Fernandes, R. V., Borges, S. V. et Yoshida, M. I. (2014). Influence of wall matrix systems on the properties of spray-dried microparticles containing fish oil. *Food Res Int*, 62, 344-352.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V. et Ball, S. (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *Int J Biol Macromol*, 23, 85-112.
- Calinescu, C. et Mateescu, M. A. (2008). Carboxymethyl high amylose starch: Chitosan self-stabilized matrix for probiotic colon delivery. *Eur J Pharm Biopharm*, 70, 582-589.
- 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.
- Caraballo, I. (2010). Factors affecting drug release from hydroxypropyl methylcellulose matrix systems in the light of classical and percolation theories. *Expert Opin Drug Deliv*, 7, 1291-1301.
- Carlstedt, J., Wojtasz, J., Fyhr, P. et Kocherbitov, V. (2015). Understanding starch gelatinization: The phase diagram approach. *Carbohydr Polym*, 129, 62-69.
- Cartilier, L., Mateescu, M. A., Dumoulin, Y. et Lenaerts, V. (1997). *Cross-linked amylose as a binder/disintegrant in tablets. US Patent. 5,616,343.*

- Chai, K., Lu, K., Xu, Z., Tong, Z. et Ji, H. (2018). Rapid and selective recovery of acetophenone from petrochemical effluents by crosslinked starch polymer. *J Hazard Mater*, 348, 20-28.
- Chen, X., Du, X., Chen, P., Guo, L., Xu, Y. et Zhou, X. (2017). Morphologies and gelatinization behaviours of high-amyllose maize starches during heat treatment. *Carbohydr Polym*, 157, 637-642.
- 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. *Ecological Engineering*, 94, 352-364.
- Colombo, P. (1993). Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 11, 37-57.
- Coma, V. (2010). Polysaccharide-based Biomaterials with Antimicrobial and Antioxidant Properties. *Polímeros Ciência e Tecnologia*, 20, 358-366.
- Damager, I., Engelsen, S. B., Blennow, A., Moller, B. L. et Motawia, M. S. (2010). First principles insight into the alpha-glucan structures of starch: their synthesis, conformation, and hydration. *Chem Rev*, 110, 2049-2080.
- Debotton, N. et Dahan, A. (2017). Applications of Polymers as Pharmaceutical Excipients in Solid Oral Dosage Forms. *Med Res Rev*, 37, 52-97.
- Desai, P. M., Er, P. X., Liew, C. V. et Heng, P. W. (2014). Functionality of disintegrants and their mixtures in enabling fast disintegration of tablets by a quality by design approach. *AAPS PharmSciTech*, 15, 1093-1104.
- Dumoulin, Y., Cartilier, L. H. et Mateescu, M. A. (1999). Cross-linked amylose tablets containing  $\alpha$ -amylase: an enzymatically-controlled drug release system. *J Control Release*, 60, 161-167.
- Friciu, M., Canh Le, T., 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, 521-530.
- Galbis, J. A., Garcia-Martin Mde, G., de Paz, M. V. et Galbis, E. (2016). Synthetic Polymers from Sugar-Based Monomers. *Chem Rev*, 116, 1600-1636.
- Gao, F., Li, D., Bi, C. H., Mao, Z. H. et Adhikari, B. (2014). Preparation and characterization of starch crosslinked with sodium trimetaphosphate and hydrolyzed by enzymes. *Carbohydr Polym*, 103, 310-318.

Gidley, M. J. et Bociek, S. M. (1988). Carbon-13 CP/MAS NMR studies of amylose inclusion complexes, cyclodextrins, and the amorphous phase of starch granules: relationships between glycosidic linkage conformation and solid-state carbon-13 chemical shifts. *Journal of the American Chemical Society*, 110, 3820-3829.

Guo, Y., Zong, S., Pu, Y., Xu, B., Zhang, T. et Wang, B. (2018). Advances in Pharmaceutical Strategies Enhancing the Efficiencies of Oral Colon-Targeted Delivery Systems in Inflammatory Bowel Disease. *Molecules*, 23, 1622-1640.

Harshad, R. M., Nikhil, R. M., Durgesh, R. P., Tushar, B. I., Datta, R. M. et Madhuri, R. M. (2016). Formulation aspects in development of controlled porosity osmotic pump tablet. *Pharm Biol Evalu*, 3, 1-18.

Heinze, T. et Koschella, A. (2005). Carboxymethyl Ethers of Cellulose and Starch - A Review. *Macromol Symp*, 223, 13-40.

Higuchi, T. et Leeper, H. M. (1973). *Drug-delivery device with stretched, rate-controlling membrane*. US3710795.

Higuchi, T. et Leeper, H. M. (1976). *Osmotic dispenser with means for dispensing active agent responsive to osmotic gradient*. US3995631A.

Hoffman, A. S. (2008). The origins and evolution of "controlled" drug delivery systems. *J Control Release*, 132, 153-163.

Hong, L. F., Cheng, L. H., Lee, C. Y. et Peh, K. K. (2015). Characterisation of Physicochemical Properties of Propionylated Corn Starch and Its Application as Stabiliser. *Food Technol Biotechnol*, 53, 278-285.

Hong, Y., Liu, G. et Gu, Z. (2016). Recent advances of starch-based excipients used in extended-release tablets: a review. *Drug Deliv*, 23, 12-20.

Hywel, D., Williams, N., L., Trevaskis, S., A. , Charman, R., M., Shanker, W., N., Charman, C., W. et Christopher, J., H. P. (2013). strategies to address low drug solubility in discovery and development. *Pharmacol Rev*, 65, 315-499.

Ileleji, K. E. et Zhou, B. (2008). The angle of repose of bulk corn stover particles. *Powder Tech*, 187, 110-118.

Imberty, A., Buléon, A., Tran, V. et Péerez, S. (1991). Recent Advances in Knowledge of Starch Structure. *Starch - Stärke*, 43, 375-384.

- Ingram, J. T. et Lowenthal, W. (1966). Mechanism of Action of Starch as a Tablet Disintegrant I. *J. Pharm. Sci.*, 55, 614-617.
- Ispas-Szabo, P., De Koninck, P., Calinescu, C. et Mateescu, M. A. (2016). Carboxymethyl Starch Excipients for Drug Chronodelivery. *AAPS PharmSciTech*, 18, 1673.
- 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, 163-175.
- Ju, C., Wang, Y., Ye, J. et Huang, Y. (2008). Modified-starch consolidation of alumina ceramics. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.*, 23, 558-561.
- Kasten, G., Lobo, L., Dengale, S., Grohganz, H., Rades, T. et Lobmann, K. (2018). In vitro and in vivo comparison between crystalline and co-amorphous salts of naproxen-arginine. *Eur J Pharm Biopharm*, 132, 192-199.
- Keraliya, R. A., Patel, C., Patel, P., Keraliya, V., Soni, T. G., Patel, R. C. et Patel, M. M. (2012). Osmotic drug delivery system as a part of modified release dosage form. *ISRN Pharm*, 2012, 528079.
- Kermanizadeh, A., Powell, L. G., Stone, V. et Moller, P. (2018). Nanodelivery systems and stabilized solid-drug nanoparticles for orally administered medicine: current landscape. *Int J Nanomedicine*, 13, 7575-7605.
- Khalid, S., Yu, L., Meng, L., Liu, H., Ali, A. et Chen, L. (2017). Poly(lactic acid)/starch composites: Effect of microstructure and morphology of starch granules on performance. *Journal of Applied Polymer Science*, 134, 455-474.
- Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. et Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm*, 15, 25-35.
- Ku, M. S. et Dulin, W. (2012). A biopharmaceutical classification-based Right-First-Time formulation approach to reduce human pharmacokinetic variability and project cycle time from First-In-Human to clinical Proof-Of-Concept. *Pharm Dev Technol*, 17, 285-302.
- Larbi, N. (2014). *Complexes en forme solide des huiles omega-3 avec du carboxyméthyl amidon : poudres et comprimés monolithiques*. Université du Québec à Montréal, Montréal. (M13347)

- Lazik, W., Heinze, T., Pfeiffer, K., Albrecht, G. et Mischnick, P. (2002). Starch derivatives of a high degree of functionalization. VI. Multistep carboxymethylation. *Journal of Applied Polymer Science*, 86, 743-752.
- Lekniute, E., Peciulyte, L., Klimaviciute, R., Bendoraitiene, J. et Zemaitaitis, A. (2013). Structural characteristics and flocculation properties of amphoteric starch. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 430, 95-102.
- Lemieux, M. (2012). *Le carboxyméthyl amidon de faible à haut degré de substitution : excipient multifonctionnel pour des formes pharmaceutiques à administration orale*. Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, (Canada).
- 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, 775-785.
- Lenaerts, V., Chouinard, F., Mateescu, M. A. et Ispas-Szabo, P. (2001). *Cross-linked high amylose starch resistant to amylase as a matrix for the slow release of biologically active compounds*. US patent 6284273B1.
- Lenaerts, V., Moussa, I., Dumoulin, Y., Mebsout, F., Chouinard, F., Szabo, P., . . . Marchessault, R. (1998). Cross-linked high amylose starch for controlled release of drugs: recent advances. *J Control Release*, 53, 225-234.
- Li, C. L., Martini, L. G., Ford, J. L. et Roberts, M. (2005). The use of hypromellose in oral drug delivery. *J Pharm Pharmacol*, 57, 533-546.
- Li, H., Yin, X., Ji, J., Sun, L., Shao, Q., York, P., . . . Zhang, J. (2012). Microstructural investigation to the controlled release kinetics of monolith osmotic pump tablets via synchrotron radiation X-ray microtomography. *Int J Pharm*, 427, 270-275.
- Li, L., Wang, L., Li, J., Jiang, S., Wang, Y., Zhang, X., . . . Mao, S. (2014). Insights into the mechanisms of chitosan-anionic polymers-based matrix tablets for extended drug release. *Int J Pharm*, 476, 253-265.
- 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, 275-283.
- 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 Chemistry*, 132, 2224-2230.

- Lopes, C. M., Bettencourt, C., Rossi, A., Buttini, F. et Barata, P. (2016). Overview on gastroretentive drug delivery systems for improving drug bioavailability. *Int J Pharm*, 510, 144-158.
- Macleod, S. G., Fell, T. J., Collett, H. J., Sharma, L. H. et Smith, A. (1999). Selective drug delivery to the colon using pectin:chitosan:hydroxypropyl methylcellulose film coated tablets. *Int. J. Pharm.*, 187, 251-257.
- Mader, K., Lehner, E., Liebau, A. et Plontke, S. K. (2018). Controlled drug release to the inner ear: Concepts, materials, mechanisms, and performance. *Hear Res*, 368, 49-66.
- Maroni, A., Del Curto, M. D., Zema, L., Foppoli, A. et Gazzaniga, A. (2013). Film coatings for oral colon delivery. *Int J Pharm*, 457, 372-394.
- Maroni, A., Zema, L., Cerea, M., Foppoli, A., Palugan, L. et Gazzaniga, A. (2016). Erodible drug delivery systems for time-controlled release into the gastrointestinal tract. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 32, 229-235.
- Masina, N., Choonara, Y. E., Kumar, P., du Toit, L. C., Govender, M., Indermun, S. et Pillay, V. (2017). A review of the chemical modification techniques of starch. *Carbohydr Polym*, 157, 1226-1236.
- 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, 212-223.
- Mateescu, M. A., Ispas-Szabo P et Mulhbacher J. (2006). Cross-linked Starch Derivatives for High Loaded Pharmaceutical Formulation. Dans *Marchessault R, Ravenelle F, X.X. Zhu (eds). Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications. (1st edn)*. ACS symposium series. Washington DC. USA. 121-140.
- Mateescu, M. A., Ispas-Szabo, P. et Assaad, E. (2015). *Controlled drug delivery: the role of self-assembling multi-task excipients* Woodhead Publishing, Elsevier, Oxford, UK.
- 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*. US Patent . 5,456,921.
- Mateescu, M. A., Tien, C. L., Friciu, M. et Ispas-Szabo, P. (2013). *Complex containing carboxyl substituted starch and lipid for delayed delivery of active ingredients*. US9220699B2.

Mathur, M. et Mishra, R. (2017). a review on osmotic pump drug delivery system *Int J Pharm Sci Drug Res*, 1, 104-119.

Mehta, R. Y., Missaghi, S., Tiwari, S. B. et Rajabi-Siahboomi, A. R. (2014). Application of ethylcellulose coating to hydrophilic matrices: a strategy to modulate drug release profile and reduce drug release variability. *AAPS PharmSciTech*, 15, 1049-1059.

Melegari, C., Bertoni, S., Genovesi, A., Hughes, K., Rajabi-Siahboomi, A. R., Passerini, N. et Albertini, B. (2016). Ethylcellulose film coating of guaifenesin-loaded pellets: A comprehensive evaluation of the manufacturing process to prevent drug migration. *Eur J Pharm Biopharm*, 100, 15-26.

Minaev, K. M., Martynova, D. O., Zakharov, A. S., Sagitov, R. R., Ber, A. A. et Ulyanova, O. S. (2016). Synthesis of Carboxymethyl Starch for increasing drilling mud quality in drilling oil and gas wells. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 43, 012071.

Missaghi, S., Patel, P., Farrell, T. P., Huatan, H. et Rajabi-Siahboomi, A. R. (2014). Investigation of critical core formulation and process parameters for osmotic pump oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 15, 149-160.

Modi, K., Modi, M., Mishra, D., Mittal, P., Sorathiya, U. et Shelat, P. (2013). Oral Controlled Release Drug Delivery System: An Overview. *International Research Journal of Pharmacy*, 4, 70-76.

Mostafa, K. M. et Morsy, M. S. (2004). Tailoring a New Sizing Agent via Structural Modification of Pregelled Starch Molecules Part 1: Carboxymethylation and Grafting. *Starch - Stärke*, 56, 254-261.

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, 51-58.

Mulhbacher, J., Mateescu, M. A. et Calinescu, C. (2005). *Composition comprising polymeric material and uses thereof* : Google Patents.

Nabais, T. et Leclair, G. (2014). High-Amylose Sodium Carboxymethyl Starch Matrices: Development and Characterization of Tramadol Hydrochloride Sustained-Release Tablets for Oral Administration. *2014*, 391-404.

Nokhodchi, A., Raja, S., Patel, P. et Asare-Addo, K. (2012). The role of oral controlled release matrix tablets in drug delivery systems. *Bioimpacts*, 2, 175-187.

- Paramakrishnan, N., Jha, S. et Kumar, K. J. (2016). Effect of carboxymethylation on physicochemical, micromeritics and release characteristics of *Kyllinga nemoralis* starch. *Int J Biol Macromol*, 92, 543-549.
- Park. (2014). Controlled drug delivery systems: past forward and future back. *J Control Release*, 190, 3-8.
- Park, S., Han, U., Choi, D. et Hong, J. (2018). Layer-by-layer assembled polymeric thin films as prospective drug delivery carriers: design and applications. *Biomater Res*, 22, 29-42.
- Peng, G., Xu, S., Peng, Y., Wang, J. et Zheng, L. (2008). A new amphoteric superabsorbent hydrogel based on sodium starch sulfate. *Bioresour Technol*, 99, 444-447.
- Peng, H., Zhong, S., Lin, Q., Yao, X., Liang, Z., Yang, M., . . . He, H. (2016). Removal of both cationic and anionic contaminants by amphoteric starch. *Carbohydr Polym*, 138, 210-214.
- 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.
- Porter, S. C. (2008). Controlled-Release film coatings based on ethylcellulose. *Drug Dev Ind Pharm*, 10, 1495-1521
- Qiu, Y., Chen, Y., Zhang, G. G. Z., Yu, L. et Mantri, R. V. (2016). *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice* Elsevier Science
- Ravenelle, F. et Rahmouni, M. (2006). Contramid<sup>©</sup> : High -Amylose Starch for Controlled Drug Delivery. Dans Marchessault R, Ravenelle F et Z. X.X. (dir.), *Polysaccharides for Drug Delivery and Pharmaceutical Applications*. (1st edn). ACS symposium series. Washington DC. USA. 79-104.
- 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 Pol*, 50, 371-378.
- Rose, S. et Nelson, J. F. (1955). A continuous long-term injector. *Aust J Exp Biol Med Sci*, 33, 415-419.

- Sahoo, R. K., Biswas, N., Guha, A., Sahoo, N. et Kuotsu, K. (2014). Development and in vitro/in vivo evaluation of controlled release provesicles of a nateglinide-maltodextrin complex. *Acta Pharm Sin B*, 4, 408-416.
- 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, 201-216.
- Sakeer, K., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2017a). Self-Stabilizing Ampholytic Starch Excipients for Sustained Release of Highly Soluble Drugs: the Case Study of Metformin. *AAPS PharmSciTech*, 18, 2658-2672.
- Sakeer, K., Scorza, T., Romero, H., Ispas-Szabo, P. et Mateescu, M. A. (2017b). Starch materials as biocompatible supports and procedure for fast separation of macrophages. *Carbohydr Polym*, 163, 108-117.
- Santus, G., Lazzarini, C., Bottoni, G., Sandefer, E. P., Page, R. C., Doll, W. J., . . . Digenis, G. A. (1997). An in vitro-in vivo investigation of oral bioadhesive controlled release furosemide formulations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 44, 39-52.
- Sekhavat Pour, Z., Makvandi, P. et Ghaemy, M. (2015). Performance properties and antibacterial activity of crosslinked films of quaternary ammonium modified starch and poly(vinyl alcohol). *Int J Biol Macromol*, 80, 596-604.
- Shah, J. C. et Maniar, M. (1993). pH-Dependent solubility and dissolution of bupivacaine and its relevance to the formulation of a controlled release system. *J Control Release*, 23, 261-270.
- Shah, N., Mewada, R. K. et Mehta, T. (2016). Crosslinking of starch and its effect on viscosity behaviour. *Rev Chem Eng*, 32, 335-352.
- Shah, V. P. et Amidon, G. L. (2014). G.L. Amidon, H. Lennernas, V.P. Shah, and J.R. Crison. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability, *Pharm Res* 12, 413-420, 1995--backstory of BCS. *AAPS J*, 16, 894-898.
- Shalini, S., Amaranadh, J., Mahendra, K. et Vinod, K. S. (2010). A green method for the preparation of highly stable organic-inorganic hybrid anion-exchange membranes in aqueous media for electrochemical processes. *Polym. Chem.*, 1302-1312.
- Shimei, X., Jingli, W., Ronglan, W. et Jide, W. (2006). Effect of degree of substitution on adsorption behavior of Basic Green 4 by highly crosslinked amphoteric starch with quaternary ammonium and carboxyl groups. *Carbohydr Polym*, 66, 55-59.

Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R. et Peppas, N., A. . (1999). HPMC-Matrices for Controlled Drug Delivery: A New Model Combining Diffusion, Swelling, and Dissolution Mechanisms and Predicting the Release Kinetics. *Pharm Res*, 16, 1748–1756.

Siepmann, J. et Siepmann, F. (2012). Modeling of diffusion controlled drug delivery. *J Control Release*, 161, 351-362.

Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S. et Rosa, M. D. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 634-643.

Sloan, J. W., Mehlretter, C. L. et Senti, F. R. (1962). Carboxymethyl High-Amylose Starch. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 7, 156-158.

Smetanova, L., Stetinova, V., Kholova, D., Kunes, M., Nobilis, M., Svoboda, Z. et Kvetina, J. (2013). Transintestinal transport mechanisms of 5-aminosalicylic acid (in situ rat intestine perfusion, Caco-2 cells) and Biopharmaceutics Classification System. *Gen Physiol Biophys*, 32, 361-369.

Son, J. S., Appleford, M., Ong, J. L., Wenke, J. C., Kim, J. M., Choi, S. H. et Oh, D. S. (2011). Porous hydroxyapatite scaffold with three-dimensional localized drug delivery system using biodegradable microspheres. *J Control Release*, 153, 133-140.

Spychaj, T., Wilpiszewska, K. et Zdanowicz, M. (2013). Medium and high substituted carboxymethyl starch: Synthesis, characterization and application. *Starch - Stärke*, 65, 22-33.

Stevenson, C. L., Santini, J. T., Jr. et Langer, R. (2012). Reservoir-based drug delivery systems utilizing microtechnology. *Adv Drug Deliv Rev*, 64, 1590-1602.

Subramanian, S. B., Francis, A. P. et Devasena, T. (2014). Chitosan-starch nanocomposite particles as a drug carrier for the delivery of bis-desmethoxy curcumin analog. *Carbohydr Polym*, 114, 170-178.

Sujka, M. et Jamroz, J. (2013). Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behaviour. *Food Hydrocolloids*, 31, 413-419.

Sultana, A. et Varun, D. (2016). Controlled porosity osmotic pump (CPOP) -The most promising startegy based system review *World J Pharm Pharm Sci*, 6, 353-367

Sun, B., Wang, W., He, Z., Zhang, M., Kong, F. et Sain, M. (2018). Bio-polymer Substrates in Buccal Drug Delivery: Current Status and Future Trend. *Curr Med Chem*.

- Tadros, M. I. (2010). Controlled-release effervescent floating matrix tablets of ciprofloxacin hydrochloride: development, optimization and in vitro-in vivo evaluation in healthy human volunteers. *Eur J Pharm Biopharm*, 74, 332-339.
- Tajiri, T., Morita, S., Sakamoto, R., Mimura, H., Ozaki, Y., Reppas, C. et Kitamura, S. (2015). Developing dissolution testing methodologies for extended-release oral dosage forms with supersaturating properties. Case example: Solid dispersion matrix of indomethacin. *Int J Pharm*, 490, 368-374.
- Takeuchi, K. et Satoh, H. (2015). NSAID-induced small intestinal damage--roles of various pathogenic factors. *Digestion*, 91, 218-232.
- Teh, C. Y., Wu, T. Y. et Juan, J. C. (2014). Potential use of rice starch in coagulation-flocculation process of agro-industrial wastewater: Treatment performance and flocs characterization. *Ecological Engineering*, 71, 509-519.
- Tester, R. F., Karkalas, J. et Qi, X. (2004). Starch—composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*, 39, 151-165.
- Timmins, P., Desai, D., Chen, W., Wray, P., Brown, J. et Hanley, S. (2016). Advances in mechanistic understanding of release rate control mechanisms of extended-release hydrophilic matrix tablets. *Ther Deliv*, 7, 553-572.
- Tuntikulwattana, S., Mitrevej, A., Kerdcharoen, T., Williams, D. B. et Sinchaipanid, N. (2010). Development and optimization of micro/nanoporous osmotic pump tablets. *AAPS PharmSciTech*, 11, 924-935.
- USP. (2015). *US Pharmacopeia 39, National Formulary 34 U.S.P. 2015. United States Pharmacopeial Convention Inc., Rockville, MD, USA.* Récupéré
- Verma, R. K., Krishna, D. M. et Garg, S. (2002). Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems. *J Control Release*, 79, 7-27.
- Verma, R. K., Mishra, B. et Garg, S. (2000). Osmotically controlled oral drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm*, 26, 695-708.
- Wang, H., Li, X., Chen, L., Huang, X. et Li, L. (2017a). Cationic starch/pDNA nanocomplexes assembly and their nanostructure changes on gene transfection efficiency. *Sci Rep*, 7, 14844.

- Wang, X., Feng, W., Wang, W., Wang, W., Zhao, L. et Li, Y. (2017b). Sodium carboxymethyl starch-based highly conductive gel electrolyte for quasi-solid-state quantum dot-sensitized solar cells. *Research on Chemical Intermediates*, 44, 1161–1172.
- Waterman, K. C., Goeken, G. S., Konagurthu, S., Likar, M. D., MacDonald, B. C., Mahajan, N. et Swaminathan, V. (2011). Osmotic capsules: A universal oral, controlled-release drug delivery dosage form. *J Control Release*, 152, 264-269.
- Wu, Z. et Song, X. (2006). Carboxymethylation of  $\gamma$ -irradiated starch. *Journal of Applied Polymer Science*, 101, 2210-2215.
- Yang, Y., Shen, L., Yuan, F., Fu, H. et Shan, W. (2018). Preparation of sustained release capsules by electrostatic dry powder coating, using traditional dip coating as reference. *Int J Pharm*, 543, 345-351.
- Yang, Z., Yuan, B., Li, H., Yang, Y., Yang, H., Li, A. et Cheng, R. (2014). Amphoteric starch-based flocculants can flocculate different contaminants with even opposite surface charges from water through molecular structure control. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 455, 28-35.
- Ye, L., Zhang, Y., Wang, Q., Zhou, X., Yang, B., Ji, F., . . . Yao, F. (2016). Physical Cross-Linking Starch-Based Zwitterionic Hydrogel Exhibiting Excellent Biocompatibility, Protein Resistance, and Biodegradability. *ACS Appl Mater Interfaces*, 8, 15710-15723.
- You, C., Chen, H., Myung, S., Sathitsuksanoh, N., Ma, H., Zhang, X. Z., . . . Zhang, Y. H. (2013). Enzymatic transformation of nonfood biomass to starch. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110, 7182-7187.
- Yun, Y. H., Lee, B. K. et Park, K. (2015). Controlled Drug Delivery: Historical perspective for the next generation. *J Control Release*, 219, 2-7.
- Zakeri, N. et Pollok, R. C. (2016). Diagnostic imaging and radiation exposure in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*, 22, 2165-2178.
- Zhang, D. F., Ju, B. Z., Zhang, S. F. et Yang, J. Z. (2003). *Progress in the synthesis and application of green chemicals, carboxymethyl starch sodium*
- Zhu, Z., Xu, D., Guo, J. et Xia, D. (2012). Comparative study on sizing properties of amphoteric starch and phosphorylated starch for warp sizing. *Fibers and Polymers*, 13, 177-184.