

THESE DE DOCTORAT

Spécialité : **Pharmacotechnie Industrielle**

**INFLUENCE DES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES DU
PRINCIPE ACTIF ET DU TRANSPORTEUR SUR LA
PERFORMANCE AERODYNAMIQUE DES MELANGES DE POUDRE
POUR INHALATION**

Présentée et soutenue publiquement

Le 16 Septembre 2011 à Lille

Par **LÊ Văn Nhã Phương**

Devant le jury ci-dessous :

Monsieur Karim AMIGHI

Rapporteur

Professeur à L'Université Libre de Bruxelles

Madame Rita VANBEVER

Rapporteur

Professeur à L'Université Catholique de Louvain

Madame Nouria FATAH

Examineur

Professeur à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Lille

Madame Emmanuelle ROBINS

Examineur

Société APTAR

Mademoiselle Marie-Pierre FLAMENT

Directeur de Thèse

Maitre de Conférences à l'Université de Lille 2

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier de tout mon cœur Mademoiselle Marie-Pierre FLAMENT, Maître de Conférence de l'Université de Lille 2, de m'avoir encadré et d'avoir dirigé cette thèse, ainsi que de m'avoir accordé sa confiance durant les années passées sous sa responsabilité. Elle a toujours su m'apporter de précieux conseils et des solutions concrètes à mes diverses interrogations et questions, mêmes les plus « stupides ». Ses compétences, sa rigueur scientifique et sa disponibilité permanente n'ont cessé de me motiver dans l'accomplissement de ce travail. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour m'avoir toujours soutenu et encouragé dans toutes mes démarches.

Ce travail a été réalisé au sein de l'Unité INSERM U1008 dirigée par Monsieur le Professeur Jürgen Siepmann, à qui j'adresse mes remerciements pour son accueil au sein de son équipe de recherche très dynamique et pour m'avoir permis de profiter d'excellentes conditions de travail.

Je remercie vivement Mademoiselle le Professeur Anne Gayot, Professeur de l'Université de Lille 2, pour m'avoir enseigné la technologie de la poudre et la Pharmacie Galénique Industrielle. Un grand merci pour son accueil chaleureux au sein de son laboratoire et pour les discussions à la fois scientifiques et sociétales que nous avons eues. Qu'elle soit ici assurée de ma gratitude.

J'adresse mes vifs remerciements à l'Ambassade de France au Viet Nam ainsi qu'à la société DOMESCO de m'avoir accordé les financements nécessaires pour réaliser cette thèse. Je tiens à remercier la société APTAR d'avoir financé les expériences très coûteuses de ce projet. La collaboration avec APTAR m'a permis d'apprendre beaucoup d'éléments tant théoriques que pratiques.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame Emmanuelle ROBINS, Société APTAR, qui m'a suivi tout au long de ce travail. Son regard critique, sa compétence scientifique et ses précieux conseils ont continuellement fait progresser mon expérience dans le domaine des poudres pour inhalation. Elle me fait l'honneur d'accepter de siéger dans ce jury de thèse.

Je tiens à manifester ma profonde gratitude à Monsieur Karim AMIGHI, Professeur de l'Université Libre de Bruxelles de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour exploiter les nouvelles techniques de caractérisation des poudres, notamment le Spraytec®, et de me faire l'honneur d'être rapporteur de ce travail.

Madame le Professeur Nouria Fatah, Professeur de L'École Centrale de Lille m'a permis d'utiliser ses équipements pour examiner les propriétés rhéologiques des poudres. Je tiens à lui exprimer mes sincères remerciements pour m'avoir accueilli au sein son laboratoire et m'avoir apporté de précieux conseils dans le domaine de la technologie des poudres dans lequel elle est experte. Elle me fait l'honneur d'accepter de faire partie de ce jury de thèse.

Je suis très sensible à l'intérêt que Madame Rita VANBEVER, Professeur de l'Université Catholique de Louvain, a porté pour mon travail en acceptant d'être rapporteur.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à Monsieur Pierre LETERME. Bien qu'il ne soit plus présent au Laboratoire, ses méthodes de travail pragmatiques et son sens de l'observation pratique exercent toujours des influences positives sur mes travaux.

Monsieur HUYNH Trung Chanh, Président de la société DOMESCO (Viet Nam) m'a encouragé et m'a soutenu dans toutes mes démarches.

Cette thèse a bénéficié de la contribution de nombreuses équipes de recherche. Un grand merci à :

- Monsieur le Professeur Hartwig Steckel et Mademoiselle Henrike Bierend, Department of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (Allemagne) pour les mesures de l'énergie de surface par iGC ;
- Monsieur Marc Descamps, Professeur de l'Université de Lille 1 de m'avoir accordé beaucoup de son temps dans l'explication des phénomènes polymorphiques ;
- Madame Florence Danède pour la réalisation des essais de diffraction des rayons X sur poudre;
- Monsieur Laurent Héliot, responsable de la Plateforme Biophotonique Cellulaire Fonctionnelle de l'Institut de Recherche Interdisciplinaire, ainsi que

Mademoiselle Marlène Brulin, de m'avoir accueilli et m'avoir aidé à réaliser les images de microscopie confocale fluorescente ;

- Monsieur Christophe Duret, Doctorant du Laboratoire de Pharmacie Galénique et Biopharmacie de l'Université Libre de Bruxelles pour les aides précieuses dans les mesures de Spraytec®
- Monsieur Ahmed Addad, de la Plateforme d'Imagerie de l'Université de Lille 1, pour la réalisation des images de MEB ;
- Monsieur Pierre Madau, de l'Université Libre de Bruxelles pour la réalisation des mesures de porosimétrie à mercure sur poudre ;
- Madame B. Grosjean, Madame M. Charbaut et Monsieur G. Williams de la société APTAR Pharma, pour leurs suivis et les discussions intéressantes faites autour de ce travail

Je remercie sincèrement Madame HOANG Thi Thanh Huong pour son énorme aide dans ce travail ainsi que dans la vie quotidienne en France. Sa loyauté, son soutien sans faille et ses apports ont contribué considérablement à l'avancement de cette thèse. Qu'elle soit ici assurée de ma profonde amitié et gratitude.

Un grand merci à :

Madame Florence Siepmann pour m'avoir soutenu et aidé dans les expériences avec le système TaXTPlus® et dans les démarches administratives.

Mesdemoiselles Susanne Muschert (Susi), Stéphanie Krenzlin (Stéffi), Yvonne Cuppok pour m'avoir accompagné dans toutes les aventures scientifiques et de la vie d'étudiant en France.

Mademoiselle Céline Delplace, pour m'avoir aidé à m'adapter à la culture française et pour avoir installé une ambiance très conviviale dans le groupe. Sa rigueur scientifique et sa qualité humaine m'ont permis d'apprendre énormément dans la vie.

Madame Do Minh Phuong pour son soutien dans ce travail et dans la vie quotidienne.

Monsieur Hugues Florin, pour son support technique, Madame Muriel Deudon pour ses « astuces » de nettoyage très intéressantes, que les autres ignorent.

À SV Lille, spécialement Thuy Anh, Thanh Tung, Thanh Van, Hung Nghi, Thuy Linh, Hoang Giang, Chi Thanh, Thanh Hai, Minh Tuan, Luan, Duy Quang, Thanh Binh... qui ont rendu ma vie d'étudiant à Lille mémorable.

Au CROUS de Lille, spécialement à Monsieur Christian Vanheck et à Madame Daniele Fabis du Service International pour tous les soutiens qu'ils m'ont apportés pendant mon séjour en France.

J'adresse mes profonds remerciements à toute l'équipe de recherche INSERM U1008 du Laboratoire de Pharmacotechnie Industrielle, actuelle ou passée, pour leur accueil chaleureux, leur soutien sans faille et leurs aides précieuses dans toutes mes démarches scientifiques et administratives. Merci à tous d'avoir contribué à instaurer une ambiance de travail très conviviale et productive.

J'adresse des remerciements sincères à mes parents et mes sœurs qui ont tout sacrifié pour que je puisse réaliser mes études.

SOMMAIRES

REMERCIEMENTS	i
SOMMAIRES	v
Liste des Figures	xiii
Liste des Tableaux	xv
INTRODUCTION	1
PARTIE A : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Aspect historique et perspectif de la thérapie par inhalation	4
II. Interaction entre les particules et l'appareil respiratoire	11
2.1 Aspects physiologiques et anatomiques de l'arbre respiratoire	11
2.2 Mécanisme de dépôt des particules solides dans les poumons	12
III. Les Inhalateurs	17
IV. Interaction entre la poudre et le fluide d'air	20
4.1 Structure de poudre à l'état de repos :	21
4.2 Entraînement de la poudre dans le fluide :	26
4.3 . Séparation des particules fluidisées:	27
V. Propriétés physicochimiques influençant la qualité et la performance aérodynamique des mélanges interactifs pour inhalation	31
5.1 Propriétés liées à la nature chimique et à la structure moléculaire.	32
5.1.1 Différents sels d'un principe actif	32
5.1.2 Transporteurs de différentes natures chimiques	33
5.1.3 Cristallinité et amorphe	34
5.1.4 Phénomène polymorphique et pseudo polymorphique	38
5.1.5 Hygroscopicité – Interaction solide /vapeur d'eau	30

5.1.6	Capacité conductrice – isolante	41
5.2	Propriétés particulières	42
5.2.1	Taille des particules et distribution granulométrique	42
5.2.2	Forme des particules	46
5.2.3	Etat de la surface – Rugosité	47
5.2.4	Densité	50
5.2.5	Caractérisation des propriétés particulières et Étude de l'interaction inter-particulaire par la technique de microscopie à force atomique (AFM) :	51
5.3	Propriétés de l'ensemble des particules	54
5.3.1	Surface spécifique	55
5.3.2	Énergie de surface	55
5.3.3	Propriétés liées à l'empilement des particules	57
5.3.3.1	Angle de repos	58
5.3.3.2	Porosité de poudre	58
5.3.4	Propriétés dynamiques	59
5.3.4.1	Charge électrostatique	59
5.3.4.2	Cohésion de la poudre - Énergie d'écoulement	60
VI.	Fabrication des poudres pour inhalation	61
6.1	Préparation des matières premières inhalables	61
6.1.1	Fabrication des particules respirables de principe actif	61
6.1.1.1	Les méthodes « top-down » - Broyage fin – Micronisation	62
6.1.1.1.1	Types d'appareil de broyage à jet d'air.	63
6.1.1.1.2	Influences du procédé de broyage sur les caractéristiques des particules fines obtenues	67
6.1.1.2	Les méthodes « bottom-up »	68
6.1.1.2.1	Technique de séchage par dispersion ou nébulisation (Spray-drying)	68
6.1.1.2.2	Cristallisation contrôlée	70
6.1.1.2.3	Sono – Cristallisation	71

6.1.1.2.4 Méthodes utilisant des fluides supercritiques	72
6.1.1.2.4.1 Précipitation à partir des solutions supercritiques	72
6.1.1.2.4.2 Précipitation utilisant le fluide supercritique comme agent anti-solvant :	73
6.1.1.2.5 Méthode de l'atomisation suivie par la lyophilisation (spray freeze-drying) :	75
6.1.1.2.6 Nanoparticules pour inhalation	75
6.1.2 Fabrication des excipients dans les poudres pour inhalation	76
6.2 Mise en forme pharmaceutique	82
6.2.1 Mélange avec un transporteur	82
6.2.1.1 Théorie de mélange	82
6.2.1.2 Les mécanismes de mélanges et les mélangeurs	84
6.2.1.3 Échantillonnage	85
6.2.1.4 Transposition d'échelle	86
6.2.1.5 . Les paramètres de mélange influençant la qualité de poudre pour inhalation :	88
6.2.1.6 . Stratégie de formulation – Ajout de l'agent ternaire ou de lactose fin:	90
6.2.2 Agglomération	91
6.2.3 Les larges particules poreuses	92
6.3 Conditionnement dans les systèmes de délivrance	
6.4 . Aspect réglementaire	95
6.4.1 Caractéristiques de la poudre pour inhalation – La dose délivrée et la dose des particules fines	95
6.4.1.1 . La dose délivrée et l'Uniformité de la dose délivrée	95
6.4.1.2 . La dose des particules fines	96
6.4.2 L'assurance de qualité au cours du développement et de la fabrication des poudres pour inhalation	100
OBJECTIFS DU TRAVAIL	104
REFERENCES	105

PARTIE B : METHODES	
I. Caractérisation physico-chimique des excipients et des principes actifs	121
1.1 Analyse granulométrique	121
1.1.1 Analyse granulométrique du lactose :	121
1.1.2 Analyse granulométrique du principe actif :	121
1.2 Mesure de la masse volumique au pycnomètre :	
1.3 Microdosage de l'eau	122
1.4 Analyse thermique par analyse calorimétrique différentielle (DSC)	122
1.5 Mesure de la surface spécifique par adsorption gazeuse	123
1.6 Analyse de la distribution porosimétrique au porosimètre à mercure	123
1.7 Mesure de l'angle de repos statique	124
1.8 Ecoulement – Volumes apparents	125
1.9 Développement d'une méthode pour déterminer la perméabilité du lit de poudre	126
1.10 Détermination de l'énergie de surface de transporteurs par la méthode de chromatographie gazeuse inverse	127
II. Évaluation des mélanges	128
2.1 Préparation des mélanges	128
2.2 Détermination de l'uniformité de teneur	128
2.3 Evaluation des caractéristiques d'adhésion	128
2.4 Evaluation aérodynamique des particules fines	129
III. Caractérisation des propriétés dynamiques des transporteurs et des mélanges:	130
3.1 Cellule d'analyse rhéologique de poudre – Système d'analyseur de Texture TaXTPlus	130
3.2 Rhéomètre Freeman FT4	131
3.2.1 Test dynamique	132

3.2.1.1 Clivage :	133
3.2.1.2 Séquence de stabilité d'écoulement :	133
3.2.1.3 Influence de la vitesse	134
3.2.2 Mesure de la perméabilité	135
3.2.3 Test d'aération:	136
IV. Mesure de la dispersion du principe actif par la technique du Spraytec®:	138
REFERENCES	139
PARTIE C : RESULTATS EXPERIMENTAUX	
Chapitre 1 DRY POWDER INHALERS: STUDY OF THE PARAMETERS INFLUENCING ADHESION AND DISPERSION OF FLUTICASONE PROPIONATE	141
Abstract	142
1. Introduction	143
2. Materials and Methods	144
3. Results and Discussion	148
4. Conclusion	154
References	156
Chapitre 2 IN VITRO EVALUATION OF POWDERS FOR INHALATION: THE EFFECT OF DRUG CONCENTRATION ON PARTICLE DETACHMENT	159
Abstract	160
1. Introduction	161
2. Materials and Methods	162
3. Results and Discussion	165
4. Conclusion	173
References	174

Chapitre 3 INFLUENCE OF THE LACTOSE GRADE WITHIN DRY POWDER FORMULATIONS OF FLUTICASONE PROPIONATE AND TERBUTALINE SULPHATE	176
Abstract	177
1. Introduction	178
2. Materials and Methods	179
3. Results and Discussion	183
4. Conclusion	193
References	194
Chapitre 4 AIR PERMEABILITY OF POWDER: A POTENTIAL TOOL FOR DRY POWDER INHALER FORMULATION DEVELOPMENT	196
Abstract	197
Introduction	198
Theoretical Considerations	199
Materials and Methods	200
Results and Discussion	204
Conclusion	214
References	215
Chapitre 5 AGGLOMERATE BEHAVIOUR OF FLUTICASONE PROPIONATE WITHIN DRY POWDER INHALER FORMULATIONS. INFLUENCE OF LACTOSE SIZE AND MIXING CONDITIONS	217
Abstract	218
Introduction	219
Materials and Methods	221
Results and Discussion	225

Conclusion	237
Acknowledgements	237
References	238
TRAVAUX COMPLEMENTAIRES	241
Chapitre 6 ÉTUDE DES POLYMORPHES DE LACTOSE COMME TRANSPORTEUR DANS LES FORMULATIONS DE POUDRE POUR INHALATION	242
I. Introduction	243
I. Matériaux et Méthodes	243
I. Résultats et Discussions	247
V. Conclusions et Perspectives	257
References	258
Chapitre 7 CARACTÉRISATION DE DIFFÉRENTS LOTS DE PROPIONATE DE FLUTICASONE. INFLUENCE DE L'AGGLOMÉRATION SUR LA PERFORMANCE AÉRODYNAMIQUE DU MÉLANGE	259
I. Etude bibliographique	260
II. Partie expérimentale :	264
2.1. Analyse calorimétrique différentielle (DSC)	264
2.1.1 Optimisation des conditions de mesure - Influence de la vitesse de balayage	264
2.1.2. Comparaison des lots de Fluticasone	265
2.1.3. Influence des cycles de chauffe :	267
2.2. Diffraction des rayons X sur poudre	268
2.3. Caractérisation des propriétés physicochimiques de la population	269
III. Conclusions et Perspectives	274
References	275

Chapitre 8 STUDY ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF CARRIERS AND MIXTURES FOR DRY POWDER INHALER	276
I. Introduction	277
II. Materials and Methods	279
III. Results and Discussion	282
IV. Conclusion	290
References	291
Acknowledgements	292
PARTIE D : CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	
CONCLUSIONS	293
PERSPECTIVES	298
REFERENCES	299

LISTE DES FIGURES

Figure A.1 Appareil à air comprimé du Professor Salès-Giron	4
Figure A.2. Inhalateur à poudre sèche inventé par Newton (1864)	5
Figure A.3. Aerohalor d'Abott en 1948	6
Figure A.4. Medihaler de Riker en 1956	7
Figure A.5. Modèle de l'arbre respiratoire selon Weibel (1963)	
Figure A.6. Trois principaux mécanismes de dépôt des particules dans les poumons en fonction de leurs tailles	13
Figure.A.7 Total et régional dépôt moyen dans les poumons basé sur une étude de ICRP (International Commission on Radiological Protection) selon	14
Figure A.8: Représentation graphique de la destinée des particules dans les voies respiratoires	15
Figure A.9. Les différentes étapes de l'interaction entre la poudre et le fluide d'air lors d'une inhalation à travers l'inhalateur	22
Figure A.10. Le pont liquide formé par la condensation de l'eau entre deux particules sphériques de rayon d_1 et d_2	23
Figure A.11. Les interactions dues à la géométrie et l'état de surface	24
Figure.A.12 Comparaison de l'amplitude des forces d'interaction mises en jeu entre les deux sphères de taille égale dans l'air	25
Figure.A.13 Les caractéristiques d'un lit de poudre fluidisé : la perte de charge à travers le lit de poudre en fonction de la vitesse de fluide d'air	26
Figure.A.14 La formation d'agglomérat de fines particules cohésives selon le modèle de Kendall.	28
Figure A.15. Les propriétés physicochimiques des solides divisées	31
Figure.A.16 Représentation schématique de l'état cristallin et amorphe	35
Figure A.17 : Habitus du cristal : la croissance inhibée dans quelques directions spatiales donne des particules de différente morphologie	38

Figure A.18 : Influences de la taille du transporteur lors du mélange et de l'aérosolisation	46
Figure A.19. Interaction particulaire en fonction de la rugosité de la surface	49
Figure A.20. Principe de fonctionnement de l'AFM	51
Figure A.21. Balance cohésive – adhésive d'un système binaire	53
Figure A.22. Principe de chromatographie gazeuse inverse	56
Figure A.23: Schéma de principe d'un microniseur à jet d'air en spirale	64
Figure A.24. Schéma d'un microniseur de type Jet O Mizer	64
Figure A.25: Schéma de principe (A) et d'installation (B) d'un microniseur à jets d'air opposés à lit fluidisé	65
Figure A.26: Schéma d'un séchoir par nébulisation	69
Figure A.27: Schéma du procédé d'expansion rapide d'une solution supercritique	73
Figure A.28: Schéma du procédé de « ASES » (Aerosol Spray Extraction System)	74
Figure A.29 : Structure chimique du α -lactose (a) et le β -lactose (b)	78
Figure A.30. Schéma des procédés de fabrication des formes de lactose	80
Figure A.31. Equilibre dans le « mélange total »	83
Figure A.32 : Évolution des valeurs des bornes d'un intervalle de confiance à 95% en fonction de nombre d'échantillons observés selon la loi χ^2	86
Figure A.33 L'appareil pour déterminer l'uniformité de la dose délivrée pour les poudres pour inhalation selon la Pharmacopée Européenne.	96
Figure A.34. Les impacteurs recommandés par les Pharmacopées pour déterminer la taille aérodynamique des poudres pour inhalation	99
Figure B.1. Entonnoir standardisé pour la mesure de l'écoulement de poudre	125
Figure B.2. Dispositif de tassement – dimensions en millimètres	125
Figure B.3 : Cellule de perméabilité et Manomètre	126
Figure B.4. Schéma du tamiseur à dépression d'air Alpine	129

Figure B.5. Inhalator Ingelheim (Boehringer)	130
Figure B.6. Principe de la cellule d'analyse rhéologique de poudre	130
Figure B.7. Principe cellule d'analyse rhéologique de poudre	132
Figure B.8. La cuve de clivage (160 mL) pour le test dynamique	132
Figure B.9. Séquence de mesure de stabilité d'écoulement	133
Figure B.10. Séquence de mesure de l'influence de la vitesse	134
Figure B.11. Les matériels et le principe de la mesure de perméabilité	135
Figure B.12. Les cycles de mesure de la perméabilité	136
Figure B.13. Installation d'un test d'aération	136
Figure B.14. Séquence de mesure pour le test d'aération. C : conditionnement, T : test (mesure)	137
Figure B.15. Schéma d'un granulomètre Laser utilisant la technique Spraytec®	138

LISTE DES TABLEAUX

Tableau A.1 Médicaments par voie inhalée (MDI = Inhalateur à valve doseuse pressurisé, DPI Inhalateur à Poudre Sèche)	8
Tableau A.2. Les principes actifs potentiels dans la voie pulmonaire	10
Tableau A.3. Les inhalateurs connus sur le marché	18
Tableau A.4. Les méthodes pour l'analyse quantitative de l'amorphe	36
Tableau A.5. Définition des diamètres utilisés dans le domaine pharmaceutique	43
Tableau A.6 Les excipients utilisés dans les poudres pour inhalation.	77
Tableau A.7. Etudes recommandées dans la phase de développement des inhalateurs à poudre sèche selon	100
Tableau A.8. Spécifications des inhalateurs à poudre sèche selon	102
Tableau B.1. Echelle d'aptitude à l'écoulement basée sur l'angle de repos	124

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Depuis l'invention des appareils générateurs d'aérosol de tailles micrométriques dans les années 1940s, l'aérosolthérapie connaît un essor considérable. Les mécanismes d'interaction entre les particules et l'arbre respiratoire sont également élucidés. Ces connaissances permettent de développer de nouveaux systèmes thérapeutiques plus transportables comme les inhalateurs à valve doseuse pressurisée et les inhalateurs à poudre sèche. Ces derniers sont plus avantageux grâce à l'absence de gaz à effet de serre et une meilleure stabilité à l'état solide, caractéristique capitale pour les nouvelles entités thérapeutiques d'origine biotechnologique ¹

La taille des particules de principe actif est un facteur majeur dans les formulations de poudres pour inhalation avec une taille aérodynamique optimale entre 0,5 et 5 μm nécessaire pour éviter le dépôt dans l'oropharynx et maximiser le dépôt dans le tractus respiratoire inférieur. À cause de la grande cohésivité des particules micronisées, la plupart des formulations de poudres pour inhalation consistent en de fines particules de principe actif fixées sur un "transporteur", classiquement de l'alpha lactose monohydrate. Le rôle du transporteur est de faciliter l'écoulement des particules de principe actif, qui est présent en faible concentration. Après inspiration par le patient, les particules de principe actif doivent se détacher du transporteur pour pénétrer et se déposer dans la partie inférieure du tractus respiratoire ^{2,3}.

Malgré les efforts continus pour créer des inhalateurs ingénieux et des formulations innovantes, l'efficacité thérapeutique des inhalateurs à poudre sèche reste encore limitée. Seulement 30% environ du principe actif contenu dans la dose nominale de l'inhalateur peut arriver aux sites d'action dans les poumons ⁴. En général, l'efficacité thérapeutique des inhalateurs à poudre sèche dépend de sa conception géométrique et hydrodynamique, de la formulation et du patient ⁵. De plus, la compliance thérapeutique pour le traitement chronique exige une utilisation confortable et indépendante de la capacité respiratoire du patient. Les connaissances sur les aspects de conception de l'inhalateur, de la formulation et de son interaction avec l'inhalateur doivent être approfondies afin de produire de nouveaux produits plus performants pour cette voie thérapeutique.

Les mélanges interactifs, généralement un transporteur avec un principe actif micronisé, sont les plus utilisés dans les formulations de poudre pour inhalation. L'interaction particulaire entre les particules de différentes natures chimiques joue donc un rôle critique dans la performance aérodynamique du produit. La technologie des poudres et la science de la formulation ont réalisé beaucoup de progrès depuis l'invention du Spinhaler®, le premier inhalateur moderne de poudre sèche. Les nouveaux outils informatiques comme CFD (computational fluid dynamics) permettent d'optimiser la conception des inhalateurs afin d'avoir une meilleure performance aérodynamique lors de l'interaction formulation – fluide d'air – inhalateur ⁶. Les nouvelles techniques de caractérisation des matériaux comme la microscopie à force atomique (AFM) ou la chromatographie gazeuse en phase inverse (iGC) aident à examiner et à faire progresser les connaissances sur l'interaction entre le principe actif et le transporteur. Les propriétés physicochimiques du principe actif et des transporteurs doivent être parfaitement contrôlées pour assurer la production cohérente et reproductible de formulations de qualités souhaitées, à savoir :

- Une homogénéité de teneur en principe actif et une régularité de dose nominale de médicament dans les conditionnements livrés au patient
- Une dose délivrée efficace et répétable lors de l'inhalation par le patient
- Une fraction respirable (fraction de particules fines de principe actif) importante pour assurer l'efficacité thérapeutique et réduire les effets indésirables dus à l'absorption dans les sites non thérapeutiques.

À l'interface de différents domaines scientifiques, notamment la physiopathologie pour mieux cibler l'arrivée du principe actif dans les poumons, la technologie des poudres pour mieux comprendre l'interaction particulaire et l'interaction entre la poudre et le fluide d'air et, la science des matériaux pour caractériser les particules, l'étude sur les poudres pour inhalation est un sujet en pleine expansion et attire beaucoup de recherches au niveau international.

Ce manuscrit s'articule autour de 4 parties. La première partie est dédiée à une étude bibliographique des connaissances actuelles sur l'interaction particulaire dans

l'inhalateur à poudre sèche lors de l'inhalation. Les méthodes actuelles de fabrication de poudre pour inhalation sont également étudiées.

La deuxième partie consiste à décrire les méthodes développées et utilisées pour caractériser les propriétés physicochimiques du principe actif et des transporteurs. La qualité de mélange est également évaluée par plusieurs techniques décrites dans cette partie.

Les résultats obtenus dans ce travail sont présentés dans la troisième partie, sous forme de publications et de rapports de résultats. Différents aspects expérimentaux et théoriques ont été étudiés et présentés, notamment :

- L'influence des conditions de mélange : temps de mélange, vitesse de mélange, concentration de principe actif, pause entre les séquences de mélange et de conservation sur la qualité et la performance aérodynamique du produit.
- L'influence des méthodes de fabrication du lactose sur l'interaction avec les principes actifs et les conséquences sur la qualité et la performance de leurs mélanges.
- Le développement d'une technique de criblage des formules lors du développement galénique basée sur la perméabilité à l'air du lit de poudre.
- Le phénomène d'agglomération des particules fines de principe actif dans les mélanges pour inhalation.
- La possibilité d'utilisation de polymorphes du lactose comme transporteur dans les formulations de poudre pour inhalation
- La caractérisation de différents lots d'un principe actif cohésif et la comparaison des méthodes permettant de mieux le contrôler avant la formulation.
- Enfin, l'étude des propriétés rhéologiques des transporteurs et de leurs mélanges avec un principe actif micronisé pour mieux comprendre le mécanisme d'interaction de la poudre avec le fluide d'air lors d'une inhalation

La dernière partie est consacrée à discuter les résultats et à les mettre en relation avec les dernières avancées dans le domaine. Une conclusion générale sur l'ensemble du travail est également présentée et les perspectives de recherche sont proposées.

PARTIE A
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Aspect historique et perspectif de la thérapie par inhalation

Ces dernières années, l'aérosolthérapie connaît un développement important. Cependant, la voie respiratoire est une des plus anciennes voies d'administration des médicaments. L'utilisation de l'inhalation à visée thérapeutique a sans doute une place dans toutes les médecines traditionnelles à travers le monde.

L'Empereur Jaune de la Chine antique (vers 2600 av JC), qui a écrit une des pharmacopées les plus anciennes du monde, identifia l'utilisation de Ma Huang (*Ephedra sinica*) pour traiter l'asthme. La médecine Ayurvédique, qui remonte à 2000 avant J.-C en Inde, a préconisé l'utilisation de fumés des mélanges d'herbes appartenant au genre *Datura* (famille des Solanacées) pour traiter l'asthme et autres problèmes pulmonaires ⁷ ⁸. L'égyptien Ebers papyrus (1554 av JC) a enregistré une inhalation de la vapeur de jusquiamme noire (*Hyoscyamus niger*, famille des Solanacées), après l'avoir jetée sur une brique chauffée pour traiter l'apnée. Fumigations et inhalations faisaient partie de la thérapeutique du « Père de la Pharmacie », Pedanius Dioscoride (1er siècle après J.-C) et aussi du « Père de la Médecine », Claude Galien (131-201). Le premier prescrivait des fumigations de soufre dans les toux quinteuses, asthmatiformes, avec expectorations purulentes et le second recommandait à ses malades d'aller respirer sur les pentes du Vésuve l'air chargé de vapeurs sulfureuses qui s'échappaient du cratère. Dans le même temps, les populations d'Amérique centrale et du Sud ont découvert, il y a environ 2000 ans, l'usage thérapeutique et récréationnel du tabac et autres plantes.



Figure A.1 Appareil à air comprimé du Professor Salès-Giron (avec l'aimable permission du Dr M.Sanders, www.inhalatorium.com)

Au moyen âge, l'inhalation conservait une place dans les traitements des maladies respiratoires (les infections, l'asthme).

Les premiers atomiseurs ou nébuliseurs ont été développés en France vers 1850 pour répondre à la demande engendrée par le phénomène de mode d'inhalation d'eau thermale. Professeur Jean Salès-Girons (1808-1879) inventa un appareil à air comprimé produisant un fin brouillard pour les malades des poumons (figure A1). Après, il y a eu plusieurs tentatives pour administrer par la voie pulmonaire non plus seulement des eaux minérales mais aussi des substances médicamenteuses mises en solution ou suspension. Cependant, malgré toutes les innovations de dispositif ingénieux de l'époque, les expérimentations sur l'animal ont montré une absence de médicaments inhalés dans les poumons. Le problème de la pénétration des substances médicamenteuses jusqu'aux alvéoles pulmonaires n'était pas résolu en raison du caractère grossier de la pulvérisation et de la dimension des gouttelettes ⁹. En même temps, l'anesthésie par voie inhalée a été découverte.

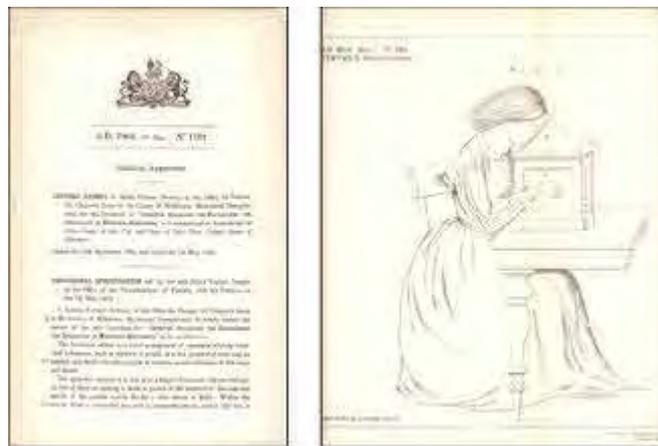


Figure A.2. Inhalateur à poudre sèche inventé par Newton en 1864 (avec l'aimable permission du Docteur M. Sanders, www.inhalatorium.com)

Le premier inhalateur à poudre sèche a été inventé par Newton en 1864 à Londres (figure A2). Le patient doit mettre la bouche contre l'ouverture d'une boîte d'inhalation. En tournant les manivelles dans la boîte d'inhalation, la poudre est aérosolisée et ensuite inhalée par le patient. Le principe de cet inhalateur est toujours d'actualité : la poudre doit être finement divisée et doit rester sèche ¹⁰.

Dans les années 1940s, plusieurs spécialistes français ont réalisé les essais d'administration des médicaments par voie pulmonaire. Avec son appareil générateur d'aérosol de l'ordre de 0,2 à 0,3 μ m, Biancani a montré non seulement la preuve de la pénétration des substances médicamenteuses inhalées sous forme d'aérosol mais aussi la pénétration sanguine, trans-alvéolaire de ces mêmes substances⁹. L'inhalation devenait une forme pharmaceutique intéressante pour le traitement des affections des voies respiratoires : comme l'administration de l'épinéphrine dans l'asthme, la

pénicilline dans l'infection respiratoire, la sulfone de promine dans la tuberculose pulmonaire... L'inhalation par l'aérosol connaît depuis une expansion considérable ¹¹.

Les « nébuliseurs », générateurs d'aérosol broncho-pulmonaire dont la taille des particules est inférieure à 5 µm, devenaient des appareils indispensables dans les hôpitaux. Ils sont le mode d'administration privilégié de certains médicaments destinés au traitement de pathologies broncho-pulmonaires sévères : aérosols de produits mucolytiques dans la mucovisidose, de pentamidine pour la prophylaxie de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*⁹. Malheureusement, les nébuliseurs sont encombrants et plutôt utilisés dans le milieu hospitalier.

Le premier inhalateur à poudre sèche moderne - Aerohalor a été commercialisé en 1948 par Abbott (figure A.3). L'Aerohalor possède une cartouche de mélange de pénicilline – lactose pour le traitement des infections pulmonaires. Il existait également la cartouche de sulfate de norisodrine, un bronchodilatateur. L'inspiration met en mouvement une bille de métal qui casse la cartouche et libère la poudre dans le flux d'air inhalé. Mais le produit a été retiré de marché après des résultats cliniques médiocres^{7,10}.



Figure A.3. Aerohalor d'Abbott en 1948 (avec l'aimable permission du Docteur M. Sanders, www.inhalatorium.com)

L'origine de l'inhalateur à valve doseuse pressurisé est citée comme une histoire remarquable de la pensée latérale ^{10, 12, 13}. Susi – la fille de 13 ans du Président du groupe Riker Laboratoires - était asthmatique. Elle avait toujours un problème de manipulation avec les nébuliseurs fragiles en verre de l'époque et demanda à son père pourquoi ne pouvait-elle prendre le médicament inhalé par les bombes d'aérosol des laques de cheveux. Les premiers inhalateurs à valve doseuse pressurisés - Medihaler-Iso et

Médihaler-Epi - sont ainsi conçus et commercialisés en 1956 (figure A.4). Le principe actif est dissout dans un solvant (éthanol, eau etc.) Le mélange de gaz liquide comprimé et de CFC force la solution à passer à travers une buse de nébulisation qui disperse la solution en fines gouttelettes. Par contre, l'utilisation des inhalateurs à valve doseuse pressurisés demande une coordination poumon – main, qui n'est possible que chez 50% de la population. Plusieurs alternatives sont proposées. L'utilisation de chambres d'inhalation améliore le dépôt pulmonaire, même dans les cas de mauvaise technique d'inhalation. L'inhalateur à poudre sèche a été modernisé avec l'apparition du Spinhaler qui délivre le cromoglycate disodique au début des années 1970 ¹⁴. Et enfin, le perfectionnement des nébuliseurs aboutit à des dispositifs portables et moins bruyants.

Vol. 141, No. 4

At Last...
UNIFORM DOSAGE NEBULIZATION
in Asthma

MEDIHALER™
with Your Favorite
Bronchodilator*

- NO RUBBER BULBS TO DETERIORATE
- NO BREAKAGE OF COSTLY GLASS NEBULIZERS
- NO SPILLING OF SOLUTION IN POCKET OR PURSE

*True nebulization—80% of particles from $\frac{1}{4}$ to 4 microns radius. Amount of medication released does not depend on pressure applied. Dosage always the same. One application usually sufficient for most patients.

Medihaler Oral Adapter is nonbreakable. Vial of Medihaler medication is leakproof, spillproof, provides 200 applications. Economical.

*MEDIHALER-EPI™
2.5% solution of epinephrine
HCl U.S.P.

*MEDIHALER-ISO™
0.25% solution of isoproterenol
HCl U.S.P.

On your prescription be sure to write "Medihaler Iso" OR "Medihaler-Epi" AND "Medihaler Oral Adapter" since medication cannot be used without Adapter. For outline write for medication only.

Notably safe for use with children. One application usually aborts attack.

Rx Medihaler-Iso and Medihaler Oral Adapter

Another First from Riker

Figure A.4. Medihaler de Riker en 1956 (avec l'aimable permission du Docteur M. Sanders, www.inhalatorium.com)

Le tableau ci-dessous cite de façon non exhaustive les médicaments administrés par inhalation (selon ¹⁵)

Tableau A.1 Médicaments par voie inhalée (MDI = Inhalateur à valve doseuse pressurisé, DPI Inhalateur à Poudre Sèche)

Classe pharmaceutique	Spécialité	DCI	Dispositif d'administration		
			Nébulisation	MDI	DPI
Bronchodilatateurs β_2 -mimétiques à courte durée	Ventoline®, Ventodisk®	Sulfate de Salbutamol	+	+	+
	Bricanyl®, BricanylTB®	Sulfate de Terbutaline	+	+	+
	Maxair autohaler®	Pirbutérol		+	
Bronchodilatateur anticholinergique	Atrovent®	Bromure de Ipratropium	+	+	
Corticoïdes	Bronilide®	Flunisolide		+	
	Bécotide	Béclométasone		+	
	Spir®	Dipropionate de Béclométasone			
	Fluxotide®, Fluxotide Diskus®	Propionate de Fluticasone		+	+
	Pulmicort®, pulmicort turbuhaler®	Budésonide	+	+	+
Bronchodilatateurs β_2 -mimétiques à longue durée	Foradil®	Fumarate de Formotérol		+	+
	Sérévent®, Sérévent Diskus®	Xinafoate de Salmétérol		+	+
Anti - allergique	Lomudal®, Lomudal Spinaler®	Cromoglycate disodique	+	+	+
	Tidale®	Nédocromil sodique		+	
β_2 -mimétiques + anticholinergique	Combivent®	Bromure de Ipratropium salbutamol	+	+	
	Bronchodual® poudre	bromure d'ipratropium + fénotérol		+	+
Fluidifiant	Pulmozyme®	Dornaze alpha	+		
Antiparasitaire	Pentacarinat®	Pentamidine	+		

Classe pharmaceutique	Spécialité	DCI	Dispositif d'administration		
			Nébulisation	MDI	DPI
		iséthionate			
Antidiabétique	Exubera®	Insuline			+
Antiviral	Relenza®	Zanamivir			+
Antibiotique	Colistine®	colistiméthate	+		
	Tobi®	Tobramycin	+		

Face à la suppression par le Protocole Montréal 1987 des gaz à effet nocif sur la couche d'ozone dont les CFC, le principal gaz propulseur, l'industrie pharmaceutique accentue le développement des alternatives : le remplacement des CFC par des HFA (Hydro-Fluoro-Alcanes) et le développement des inhalateurs à poudre sèche pour les produits déjà commercialisés sous forme d'aérosol - doseur⁵. L'inhalateur à valve doseuse à liquide (MDLI pour metered-dose liquid inhaler) – Respimat® - a également été inventé par Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. Respimat a la même fonction que l'inhalateur à valve doseuse pressurisé mais sans le gaz propulseur. ¹⁶⁷

Tout en continuant à développer des produits ayant principalement une action locale, l'attention actuelle des recherches dans la thérapie par inhalation se porte sur l'administration des médicaments à effet systémique¹⁷, spécialement des médicaments de nature macromoléculaire issus de la biotechnologie. Avec une surface de contact importante (environ 75 m²) et une très mince épaisseur de la couche épithéliale alvéolaire (0,1-0,5 µm), les poumons offrent une voie d'administration très intéressante. En plus, l'effet de premier passage hépatique est évité par voie pulmonaire. Le métabolisme et l'activité enzymatique au niveau du poumon sont différents de ceux de la voie gastro-intestinale. Ils permettent ainsi l'administration pulmonaire des peptides et des protéines en évitant la voie injectable douloureuse¹⁸. Bien que le produit soit retiré du marché à cause de l'inhalateur très volumineux non discret ¹⁹, Exubera® (Insuline) a ouvert une nouvelle perspective de traitement systémique par voie d'inhalation.

Le tableau A.2 montre les derniers principes actifs qui font l'objet de recherche pour l'administration par voie pulmonaire ^{17,18}.

Tableau A.2. Les principes actifs potentiels dans la voie pulmonaire

Principe actif	Action thérapeutique recherchée
Tobramycine	Antibiotique dans la mucoviscidose
Gentamicine	Antibiotique dans la mucoviscidose
Amphotéricine B	Antifongique pulmonaire (<i>Aspergillus fumigatus</i>)
Rifampicine	Antituberculeux
Sulfate de Capréomycine	Antituberculeux
l'hormone de libération de la lutéinostimuline (LHRH) (leuprolide)	traitement du cancer de la prostate
1-déamino-8-D-Arginine vasopressine	Antidiurétique à longue durée d'action
Calcitonine	Traitement de l'ostéoporose post ménopausique.
Hormone Parathyroïde (PTH)	Traitement d'hypothyroïdie ou de thyroïdectomie
GCSF (facteur de stimulation des colonies de granulocytes)	Traitement de neutropénie après chimiothérapie.
Interféron - α	Traitement de cancer du poumon, Antiviral dans le cas de mucoviscidose ²⁰
Hormone de croissance	Traitement des pathologies liées à l'hormone de croissance
α -1 - antitrypsine	Traitement de déficit en alpha-1 antitrypsine
Cyclosporine A	prévention du rejet des transplantations pulmonaires

Les différentes limites de la thérapie par inhalation sont identifiées. On peut citer ²¹ 7:

- La complexité de l'utilisation des systèmes de délivrance, spécialement les inhalateurs pressurisés à valve doseuse et les nébuliseurs.
- Il existe différents inhalateurs avec différentes techniques d'utilisation qui entraînent une confusion chez les patients.
- Une faible et parfois non reproductible quantité de médicament pénètre effectivement aux poumons.

- Le dépôt des particules se fait préférentiellement dans les régions bien ventilées plutôt qu'aux zones cibles qui sont protégées par l'obstruction.
- La distribution non uniforme de médicament dans les poumons pourrait conduire à la concentration insuffisante aux cibles d'action.
- Le métabolisme pulmonaire dans certains cas de médicament.

La dynamique de recherche et développement dans ce domaine repose d'une part sur la conception de l'inhalateur et d'autre part sur la formulation et l'ingénierie particulaire. Ces avancées technologiques permettent d'espérer d'intéressantes perspectives pour l'amélioration de la qualité de vie du patient.

II. Interaction entre les particules et l'appareil respiratoire

2.1. Aspects physiologiques et anatomiques de l'arbre respiratoire

L'appareil respiratoire est un organe de l'organisme permettant la communication directe entre le milieu extérieur ambiant – le gaz inspiré et le milieu intérieur du corps – les vaisseaux sanguin à travers la barrière alvéolo-capillaire. Pour cette raison, son organisation anatomique et physiologique est bien adaptée pour se défendre contre les invasions possibles des corps étrangers.

L'appareil respiratoire se compose de trois parties (figure A.5) :

- région extra-thoracique (ET)
- région trachéobronchique (TB)
- région pulmonaire (région alvéolaire, zone périphérique ou parenchyme) (P)

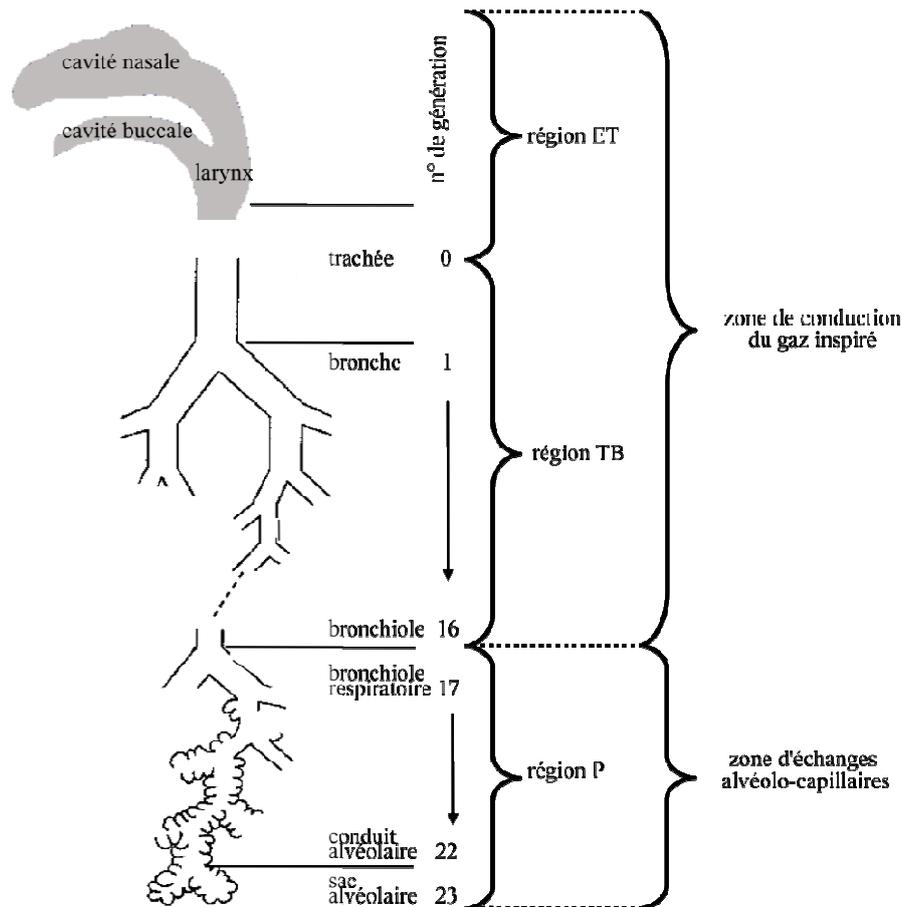


Figure A.5. Modèle de l'arbre respiratoire selon Weibel (1963) ²²⁻²⁴

Le gaz inspiré est conditionné tout au long de l'appareil respiratoire pour atteindre 37°C et presque 100% humidité relative dans les alvéoles. L'échange gazeux ne s'effectue que dans la zone alvéolo-capillaire tandis que les régions extra-thoraciques et trachéobronchiques assurent essentiellement la conduction.

2.2 Mécanisme de dépôt des particules solides dans les poumons

Lors d'une inhalation, les particules étrangères ont un cheminement spécifique qui est conditionné par différents facteurs :

- leurs tailles aérodynamiques. Ce paramètre tient compte des différentes caractéristiques des particules : la taille géométrique, la forme^{25,26} et la densité. La taille aérodynamique est définie selon l'équation suivante :

$$d_{\text{aérodynamique}} = d_{\text{géométrique}} \sqrt{\frac{\rho}{\chi \rho_0}}$$

avec : ρ densité de la particule

ρ_0 est égale à l'unité

X facteur de forme

- La charge des particules. Les particules chargées à forte mobilité résultent d'une faible charge sur de petites particules ($< 0,1 \mu\text{m}$) ou de forte charges sur des grosses particules ($> 1 \mu\text{m}$). Les petites particules non chargées se déposent rarement au niveau du nez ou du pharynx, mais quand les particules sont chargées, même faiblement, le dépôt s'effectue aussi au niveau des narines ou du nez ²⁴.
- L'hygroscopicité. Les particules hygroscopiques s'agrandissent lors de l'inhalation. Le changement de taille modifie le modèle de dépôt des particules ^{24,27}.
- L'anatomie du tractus respiratoire avec la spécialité du système de bifurcation asymétrique et la diminution progressive du calibre des voies aériennes ²².
- Le régime de fluide d'air qui est à la fois défini par l'anatomie respiratoire et le régime respiratoire (la vitesse et le volume d'inspiration). La vitesse d'air et le nombre de Reynold (Re) sont dépendants aux débits d'air réalisé par le sujet ²⁸

Trois mécanismes principaux de dépôt des particules sont généralement acceptés. On peut citer ci-dessous (figure A.6) ^{23, 29, 30}:

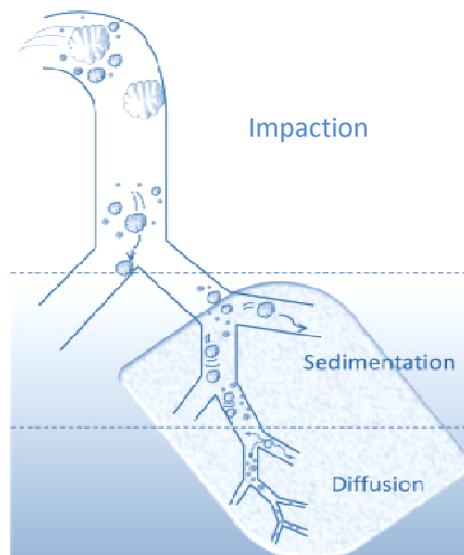


Figure A.6. Trois principaux mécanismes de dépôt des particules dans les poumons en fonction de leurs tailles (Selon William III, Robert O. et al, avec la permission d'Elsevier)

- l'impaction par inertie qui concerne préférentiellement les particules de taille importante ($> 7 \mu\text{m}$) en mouvement. Le changement brutal de l'angle de voie respiratoire par la bifurcation cause l'impaction des grandes particules dans le régime de fluide régi par la loi de Navier-Stokes (la voie de conduction, génération de 1 à 6). La géométrie de la voie respiratoire joue un rôle important dans ce mécanisme de dépôt ²² et est à l'origine de variations importantes entre différents sujets ²⁷.
- la sédimentation par gravité est un processus temps dépendant dans lequel les particules se déposent sous l'influence de la densité et de la taille particulaire (de 1 à $5 \mu\text{m}$). La sédimentation s'effectue essentiellement dans les dernières divisions bronchiques (génération de 7 à 16). Dans cet endroit, le régime de fluide est prédominant par la loi de Stokes et la loi de Poiseuille (R_e important).
- la diffusion par mouvement brownien a lieu principalement dans les bronchioles terminales et dans les alvéoles où le fluide d'air est laminaire et régi par la loi de Poiseuille. Les particules concernées sont de taille inférieure à $1 \mu\text{m}$. Contrairement aux mécanismes de l'impaction et de la sédimentation, la déposition par diffusion est inversement proportionnelle à la taille des particules.

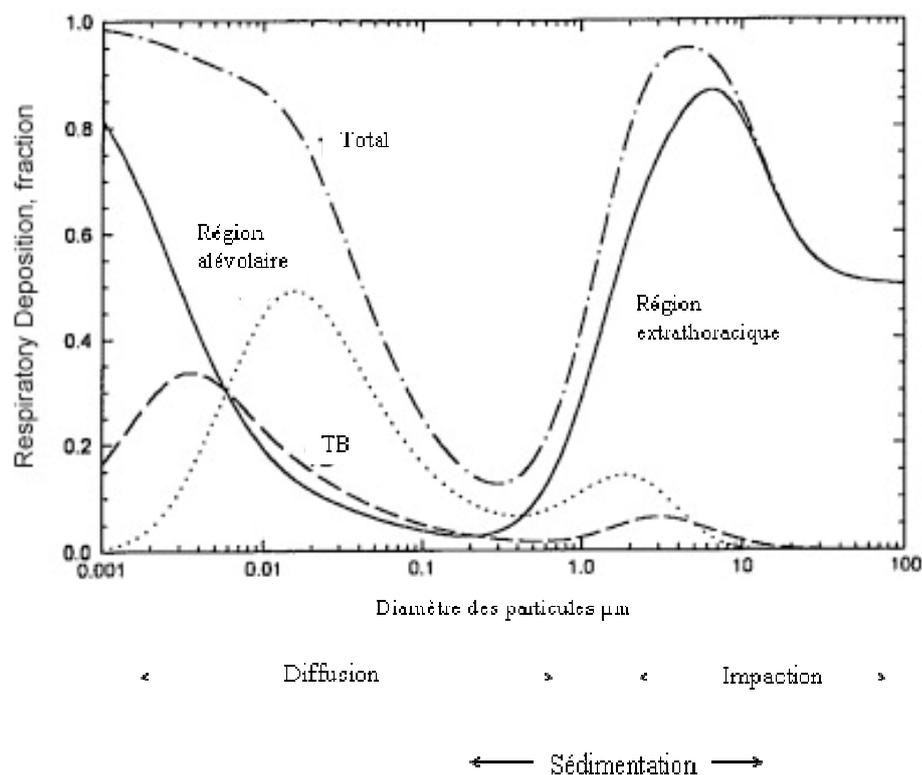


Figure.A.7 Total et régional dépôt moyen dans les poumons basé sur une étude de ICRP (International Commission on Radiological Protection) selon ³¹

Après le dépôt, le principe actif contenu dans les particules est ensuite transféré dans l'organisme à partir de leurs points de dépôt. Tous les éléments sont résumés dans la figure A.8.

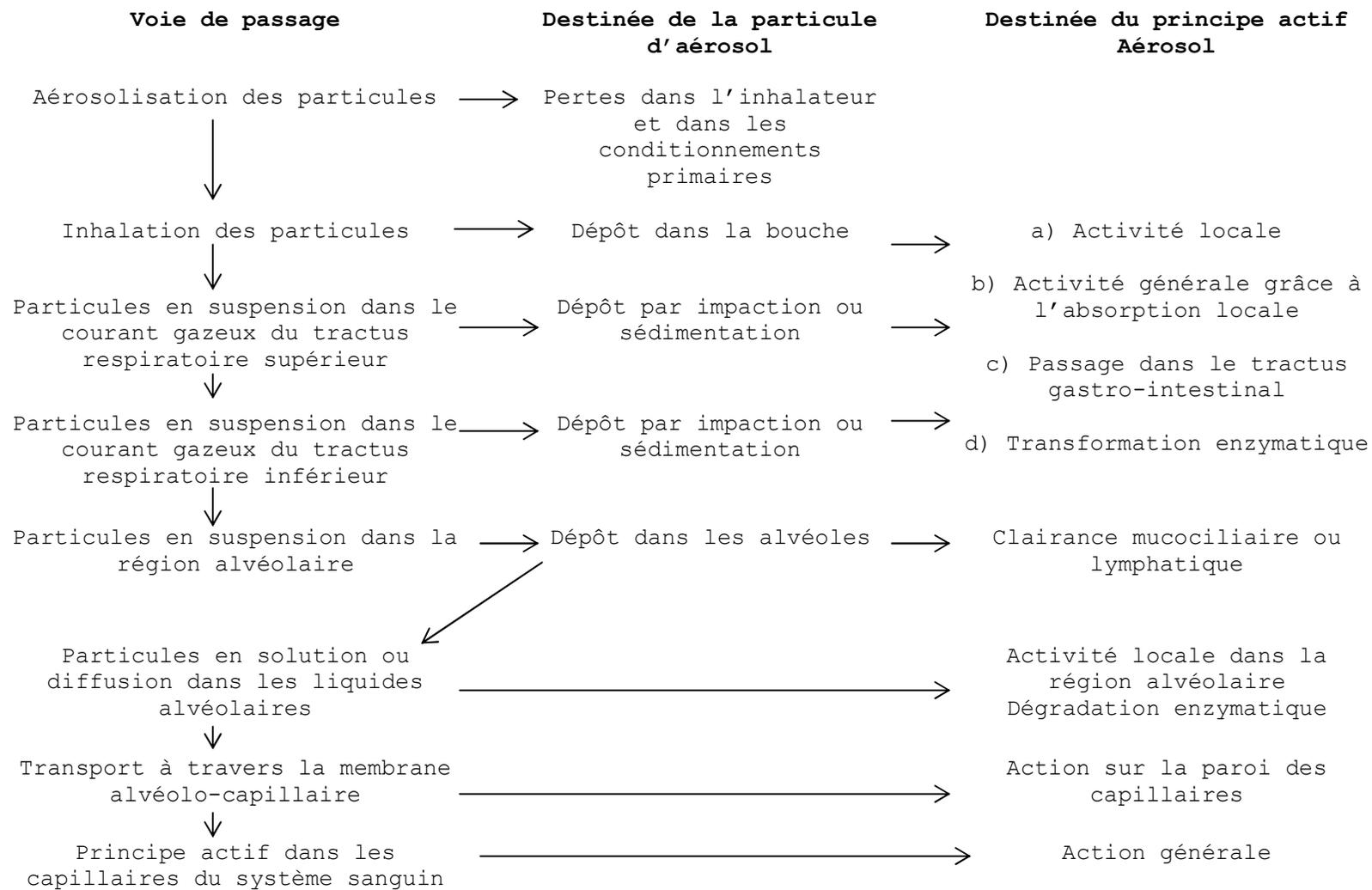


Figure A.8: Représentation graphique de la destinée des particules dans les voies respiratoires (adaptée et modifiée à partir de la source ²⁴)

L'efficacité du médicament par inhalation dépend non seulement du modèle de déposition des particules mais aussi de différents mécanismes de transformations enzymatiques et de l'interaction avec leurs récepteurs.

Différentes enzymes responsables du métabolisme des médicaments sont détectées à différents niveaux de la voie respiratoire, et constituent un mécanisme de protection de l'organisme. Presque toutes les enzymes de métabolisme hépatique, surtout la famille de CYP P450, sont retrouvées dans les poumons avec une concentration moins importante. L'activité enzymatique des monoamines oxydases (MAOs), omniprésentes dans la voie respiratoire inactive les amines endogènes comme la noradrénaline, 5-HT (5- hydroxytryptamine)...Les médicaments à structure similaire sont susceptibles d'être métabolisés et rendus inactifs par ces enzymes. Les tissus pulmonaires présentent également une forte activité des aminopeptidase and dipeptidyl carboxyl-peptidase. Les protéines et les peptides ayant la chaîne d'acide aminé inférieure à 30 acides aminés sont rapidement hydrolysés par les protéases pulmonaires tandis que les protéines ayant le poids moléculaire compris entre 6 et 50 kDa sont résistantes aux enzymes protéolytiques et ont une biodisponibilité inhalative importante. Tous ces facteurs doivent être pris en compte dans les études de formulations des médicaments par inhalation³².

L'interaction du principe actif et de ses récepteurs est nécessaire pour exercer l'action thérapeutique. Les récepteurs β -adrénergiques et muscariniques M_3 sont présents dans tous les tissus pulmonaires, de la voie de conduction aux alvéoles. Par contre, seuls les récepteurs dans la région tapissée par les muscles lisses sont responsables de l'effet de relaxation ou contraction des voies respiratoires. Le rôle de ces récepteurs dans la zone alvéolaire dépourvue de muscle lisse n'est pas encore identifié, mais une l'action anti-inflammatoire serait possible. Par conséquent, le dépôt au niveau trachéobronchique et aux bronchioles est souhaitable pour les agonistes β -adrénergiques et les anticholinergiques. Les récepteurs des stéroïdes sont également omniprésents dans les poumons. L'effet anti-inflammatoire est important tout au long de la voie respiratoire³³.

En conclusion, la performance thérapeutique des médicaments par voie d'inhalation est dépendante de différents facteurs, à savoir ^{3,17} :

- le patient par ses aspects anatomiques et physiopathologiques qui conditionnent le dépôt sélectif des particules inhalées
- l'inhalateur qui fournit les mécanismes d'aérosolisation et de délivrance nécessaires.
- une formulation homogène, stable et capable de libérer les particules de principe actif pour entrer dans les régions d'action.
- et récemment, le rôle des professionnels médicaux est reconnu très important. En présence de la multitude d'inhalateurs avec diverses méthodes d'utilisation, les professionnels médicaux doivent trouver une thérapie mieux adaptée aux patients et les éduquer pour avoir une adhérence thérapeutique ³⁴.

III. Les Inhalateurs

Les inhalateurs à poudre sèche sont conçus pour fournir l'énergie nécessaire au sein de la formulation de poudre lors de l'inspiration du patient afin d'entraîner la poudre dans l'air inspiré et d'interrompre les forces cohésives – adhésives mises en jeu dans la formulation. Les particules sont ainsi inhalées et déposées dans l'arbre respiratoire sous forme des particules primaires^{35,36}. La performance de chaque inhalateur dépend de différents facteurs, à savoir³⁷ :

- la formulation de poudre utilisée (mélange interactif avec un transporteur, agglomérats de principe actif seul, les particules poreuses...)
- le système de conditionnement de dose (gélules, alvéoles ou système réservoir avec un mécanisme de dosage avant chaque inhalation...)
- les mécanismes mis en jeu pour disperser la poudre en aérosol.

Il y a différents mécanismes de dés-agglomération de la poudre dans l'air inspiré, à savoir³⁶ :

- la turbulence
- le mécanisme d'impaction⁶
- l'accélération abrupte de vitesse des particules de transporteur pour séparer les particules de principe actif
- la vibration mécanique^{14,38}
- la classification de poudre par cyclone³⁹

Souvent, la conception des inhalateurs emploie soigneusement ces mécanismes de façon concomitante afin d'atteindre une dispersion maximale pour un effort inspiratoire minime. L'interaction entre le fluide d'air avec les géométries d'inhalateur et la formulation de poudre donne à chaque inhalateur une efficacité spécifique, donc une méthode d'utilisation unique⁴⁰.

La résistance spécifique à l'inhalation est une caractéristique importante de l'inhalateur qui reflète sa conception géométrique. Elle est déterminée par la mesure de la pression différentielle à travers l'inhalateur dans une plage de débit d'air. La pente de la droite tracée par la pression différentielle en fonction du débit d'air permet le calcul de la résistance intrinsèque de l'inhalateur⁴¹⁻⁴³.

La résistance de l'inhalateur peut être déterminée à partir l'équation suivante

$$R = \frac{Q}{\sqrt{\Delta P}}$$

Donc, R est la résistance de l'inhalateur, ΔP est la pression différentielle mesurée à travers l'inhalateur au débit d'air Q.

En général, l'inhalateur ayant une résistance importante génère une fraction respirable supérieure par rapport à celui ayant une faible résistance ⁴², grâce à la turbulence plus intense. Cependant, un équilibre de résistance doit être trouvé pour permettre de générer une fraction respirable importante sans trop d'effort inspiratoire, spécialement chez les populations gériatrique et pédiatrique ⁴⁴.

La diversité des inhalateurs disponibles sur le marché rend leur choix difficile. Bien qu'il y ait beaucoup d'effort pour améliorer la conception, les inhalateurs à poudre sèche génèrent encore des faibles fractions pulmonaires de principes actifs, de l'ordre de 30% de la dose nominale ⁴. Il y a encore beaucoup d'opportunité dans l'étude de perfectionnement des inhalateurs à poudre sèche.

Un inhalateur idéal devrait avoir les caractéristiques suivantes ^{28,45-48 49}:

- dosage efficace : méthode de dosage précise pour délivrer les doses émises reproductibles.
- mécanismes efficace de dispersion de la poudre pour
 - o avoir une dés-agglomération maximale
 - o un modèle de dépôt pulmonaire dans les régions cibles d'action locale ou systémique
 - o être indépendant de la capacité inspiratoire de patient
 - o permettre un dépôt pulmonaire reproductible sur toute la plage de débit inspiratoire
- perte extra-pulmonaire minimale (faible rétention dans l'inhalateur, faible impaction dans la gorge, faible perte par expiration...)
- protection de la formulation efficace vis-à-vis des conditions environnementales et de l'humidité expirée par le patient.
- conception optimisée pour les nouveaux systèmes de formulation comme les nanoparticules, les particules poreuses délicates, les particules de peptides...
- efficacité pour différents principes actifs et pour différents dosages.
- utilisation simple, facile, confortable et discrète pour permettre une adhérence thérapeutique maximale
- protection contre le surdosage
- possibilité de contrôle (auditif, visuel ou gustatif) de la prise médicamenteuse ⁵⁰
- prix raisonnable car utilisation à long terme ⁵¹

Certains inhalateurs commercialisés sont cités dans le tableau A.3 (selon ^{14,45,48,52-54}):

Tableau A.3. Les inhalateurs connus sur le marché

Inhalateur	Principe actif - Type de formulation	Fabricant	Mécanisme de dispersion	Fraction respirable
Dose unitaire, pré-conditionnée (capsule ou alvéole)				
Inhalator	DSCG - lactose monohydrate	Boehringer Ingelheim	Passif - impaction, force capillaire	16,4 % (55-70 L/min)
Rotahaler®	DSCG - lactose monohydrate	GlaxosmithKine	Passif - impaction, rotor	6,2 % (55-77 L/min)
Spinhaler®	DSCG - lactose monohydrate	Aventis	Passif - impaction, vibration	5,5 -13,1% (60-120 L/min)
Multidose avec les doses pré-conditionnées				
Exubera®	Poudre sèche	Nektar therapeutics	Actif par Air comprimé - impaction	ND
Diskhaler®	Sulfate de Salbutamol - Lactose monohydrate	Glaxo	Passif - force de cisaillement, turbulence	12,4%
Diskus®	Propionate de Fluticasone - lactose monohydrate	Glaxo	Passif - turbulence	12,6 % (respiration normale)
Spiros®	Dipropionate de béclométasone	Dura Pharmaceutical	Actif par rotor électromécanique - turbulence, impaction,	40 % (15 L/min) 37,5 % (30L/min) 30,4 % (60 L/min)
Multidose - reservoir				
Clickhaler®	Dipropionate de béclométasone - Lactose monohydrate	ML Labs	Passif - impaction	31% (35-63 L/min)
Easyhaler®	Sulfate de Salbutamol - Lactose monohydrate	Orion	Passif - force de cisaillement, turbulence	28,9 % (58 L/min)
Pluvinal®	Sulfate de	Chiesi	Passif - force de	11,7% (28

Inhalateur	Principe actif – Type de formulation	Fabricant	Mécanisme de dispersion	Fraction respirable
	salbutamol – Lactose monohydrate		cisaillement, turbulence	L/min)
Turbuhaler®	Budésonide – agglomérats	AstraZeneca	Passif –force de cisaillement, turbulence, force capillaire	32% (52L/min)
Novolizer®	Budésonide – Lactose monohydrate	Viatrix	Passif – classification de poudre par cyclone	20% (54L/min) 32 % (99 L/min)

IV. Interaction entre la poudre et le fluide d'air

Pour arriver aux cibles dans les poumons, le fluide d'air inspiré par le patient doit interagir avec la poudre pré-mesurée à l'état statique dans l'inhalateur, la rendre fluidisée et individualiser les particules. En fonction de la structure de poudre concernée, ce phénomène complexe peut être divisé en plusieurs étapes ³⁷:

- entraînement (ou re-suspension) de la poudre dans le courant d'air
- dés-agglomération des particules de type agglomérats cohésifs ou de type principe actif - transporteur par les mécanismes mis en jeu dans l'inhalateur.
- Dépôt des particules dans l'inhalateur et dans les voies respiratoires en fonction des propriétés aérodynamiques des particules.

Ces processus peuvent être résumés dans la figure A.9.

Le processus d'entraînement de poudre lors d'une inhalation dans un inhalateur à poudre sèche est complexe mais des phénomènes similaires sont déjà bien étudiés dans d'autres domaines de recherche : la fluidisation dans un lit d'air fluidisé et le transfert pneumatique ⁵⁵. Dans le cas de fluidisation normale, le courant gazeux est verticalement soufflé au travers du lit de poudre de bas en haut. Lorsque la force apportée par le fluide est suffisamment importante pour dépasser la force gravitationnelle due à la masse des particules, la poudre devient fluidisée. Par ailleurs, dans le cas de transfert pneumatique, le courant gazeux est horizontal et le fluide d'air guide les particules aérosolisées dans une direction formée par la construction de tuyaux dans l'inhalateur. Dans tous les cas, la force hydrodynamique doit interagir avec la poudre à l'état statique et ainsi perturber la structure de poudre pour rendre les particules de poudre individualisées.

4.1 Structure de la poudre à l'état statique :

A l'état statique, différentes forces d'interaction particulaire sont mises en jeu, à savoir la force d'attraction de type van der Waals, la force électrostatique, la force capillaire, l'enchevêtrement mécanique et la force de friction à la surface ⁵⁶.

Pour la poudre cohésive, l'interaction entre les particules est principalement gouvernée par la force d'attraction de **type van der Waals**. Cette force est normalement de l'ordre de 0,1 eV à 10 eV, qui est inférieure à la force de liaison chimique ⁵⁷. La force de van der Waals dépend de la distance r entre 2 particules, souvent inférieure à 10^{-3} μm . Elle peut être calculée à partir de l'équation suivante (modèle de Hamaker)

$$F_{vdw} = \frac{A}{12r^2} \cdot \frac{d_1 \cdot d_2}{(d_1 + d_2)}$$

Où A est la constante de Hamaker

d_1 et d_2 sont les rayons des particules sphériques du modèle.

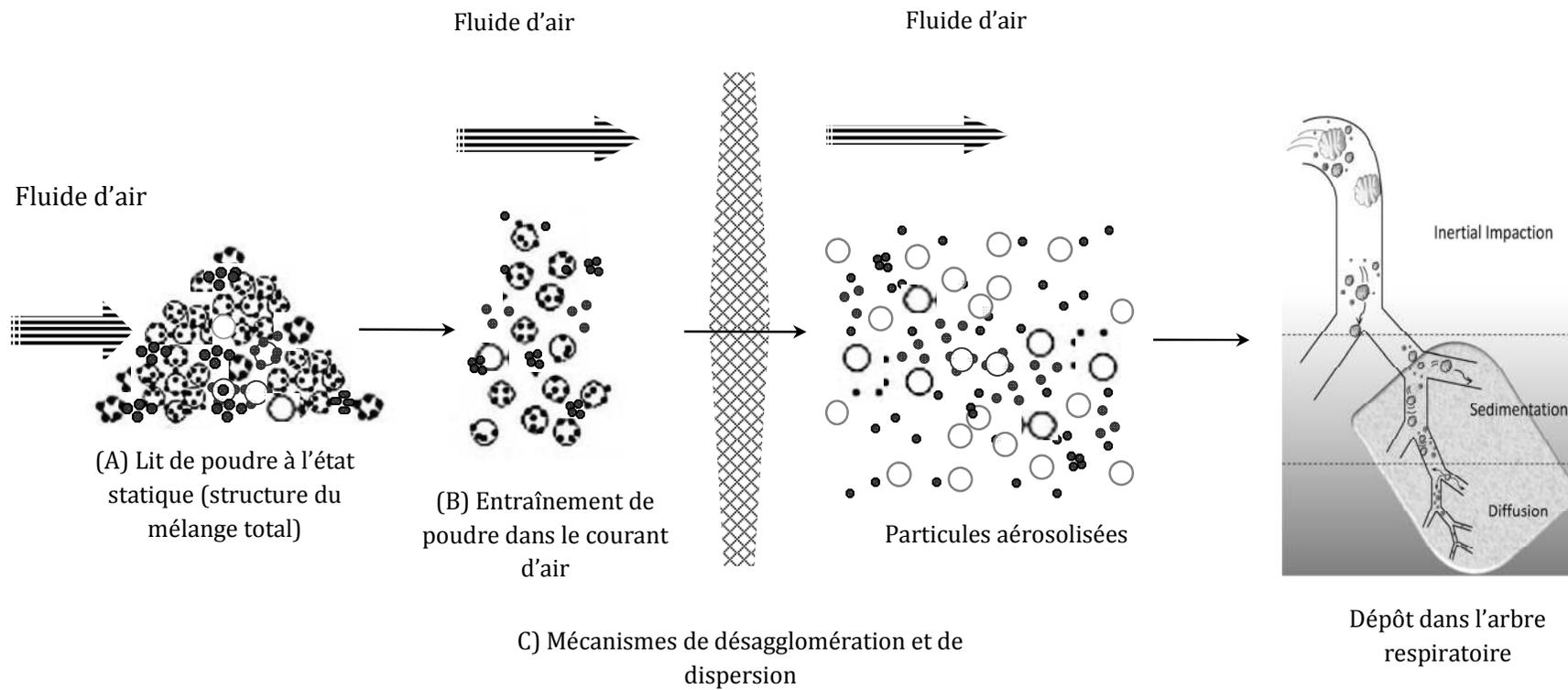


Figure A.9. Les différentes étapes de l'interaction entre la poudre et le fluide d'air lors d'une inhalation à travers l'inhalateur

Dans le cas de particules non sphériques et rugueuses, des modifications de cette équation sont possibles en prenant en compte le diamètre effectif des aspérités au point de contact. En effet, les aspérités au niveau de contact des particules réduisent l'amplitude de la force de type van der Waals. Une réduction significative de la force adhésive est obtenue quand le diamètre des aspérités est supérieur à 20 nm, selon les nouveaux modèles de calcul et les mesures expérimentales ⁵⁸.

Les molécules organiques sont généralement isolatrices donc ces particules sont facilement chargées après contact avec des surfaces, surtout avec les surfaces de nature différente. Le contact conduit au transfert d'électron entre les surfaces et les rend chargées. **La force électrostatique** entre les deux particules de charge q_1 et q_2 est définie selon la loi de Coulomb :

$$F_q = \frac{q_1 \cdot q_2}{4 \cdot \pi \cdot \varepsilon \cdot r^2}$$

où ε est la permittivité électrique

La force électrostatique joue un rôle important dans les mélanges de poudre micronisée très isolatrice dans une humidité environnementale faible (HR <65%) et surtout pour les particules se mouvant et entrant en contact. La surface de contact lors du processus de mélange, la force de friction, la présence des agents ternaires antistatiques... peuvent influencer la force électrostatique.

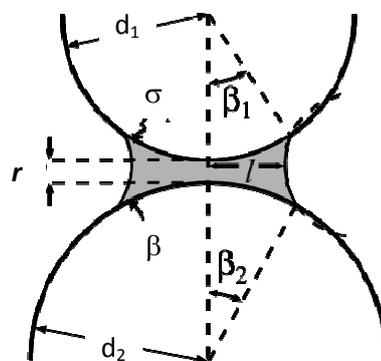


Figure A.10. Le pont liquide formé par la condensation de l'eau entre deux particules sphériques de rayon d_1 et d_2

A l'humidité relative importante (HR > 65%), la condensation de l'eau peut conduire à **la formation de ponts liquides**. Ce phénomène dépend de la propriété de surface, à savoir l'angle de contact entre différentes interfaces, la distance entre les particules et la rugosité. La force capillaire de liquide entre deux particules sphériques de rayon d_1 et d_2 espacée par une distance r est exprimée selon l'équation suivante ⁵⁹:

$$F_{\text{capillaire}} = 2\pi \cdot \gamma_L \cdot R^* \cdot (\cos \sigma + \cos \beta) \left(1 - \frac{r}{\sqrt{\frac{V}{\pi R^*} + r^2}} \right)$$

avec $R^* = \frac{d_1 \cdot d_2}{d_1 + d_2}$

où σ et β sont respectivement les angles de contact entre le liquide avec la surface des deux particules de matière différente.

γ_L est la tension interfaciale liquide – air

V est le volume de liquide condensé

La surface des particules solides est rarement lisse due à la présence de cavités et d'aspérités. En contact avec les autres particules, **les interactions par la géométrie** sont possibles. La figure A.11 décrit les emboîtements du type clé - serrure ^{60,61} ou d'emprisonnement des petites particules dans les cavités de taille similaires sur les grandes particules ⁶². L'amplitude de cette interaction est affectée par la durée et par les forces mises en jeu lors du mélange. En plus, a lieu la friction entre deux surfaces rugueuses en contact. Bien que la surface couverte par la zone d'interaction soit importante, la surface réelle de contact est beaucoup plus petite. Avec la force mise en jeu, la pression sur les points de contact est ainsi renforcée d'où l'augmentation des forces de friction et l'emboîtement des particules.

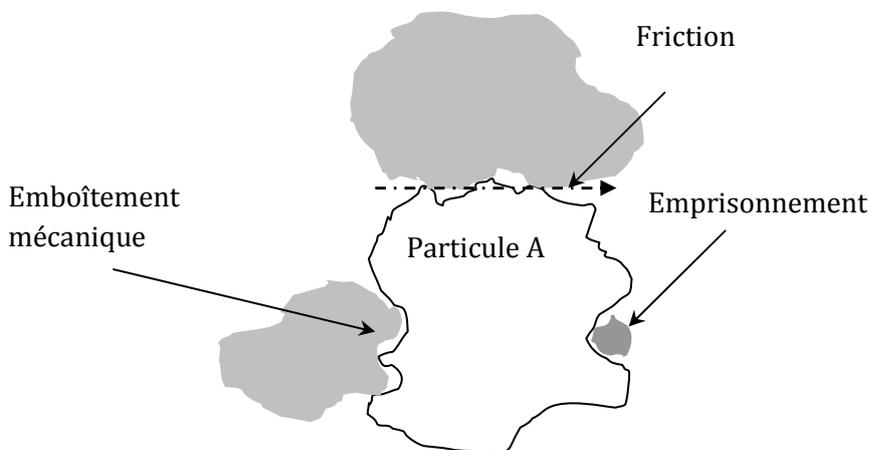


Figure A.11. Les interactions dues à la géométrie et l'état de surface

En fonction de l'histoire de la poudre, la formation **des ponts solides** due à la dissolution – recristallisation est également possible, spécialement dans le cas des particules hygroscopiques. Par conséquent, la séparation des particules devient plus difficile ⁶³.

Les amplitudes de ces forces d'interaction sont résumées dans la figure A.12. Les facteurs influençant l'interaction particulaire sont nombreux, à savoir les propriétés

physico-chimiques des particules, leur histoire de fabrication et les conditions environnementales. Ils sont détaillés et discutés dans les parties suivantes.

A l'état de repos, à cause des forces d'interaction particulaire et de gravité, une structure de poudre très complexe est formée, spécialement pour les mélanges binaires généralement utilisés pour l'inhalation. Selon la théorie de mélange ordonné, les fines particules, normalement celles de principe actif, adhèrent sur la surface des grandes particules de transporteur ⁶⁴. Cela forme des agrégats de type substrat – absorbant. En réalité, la situation est beaucoup plus compliquée. En fonction de la concentration des fines particules, elles peuvent adhérer sur la surface selon la théorie de mélange ordonné mais à des concentrations plus élevées, les fines particules s'agglomèrent. Les agglomérats de principe actif seul sont détectés dans les mélanges binaires et rapportés dans la littérature ⁶⁵⁻⁶⁸. De plus, les fines particules de transporteur peuvent former également de l'agglomérat avec les fines particules de principe actif. Ces agrégats transporteur – principe actif s'avèrent plus fragiles par rapport à ceux des particules de principe actif seul ⁶⁹. Cette situation de mélange peut être mieux abordée par le concept de mélange total, introduit par Staniforth ⁷⁰. Toutes ces sous-structures de poudre à l'état statique sont présentées dans la figure A.9.

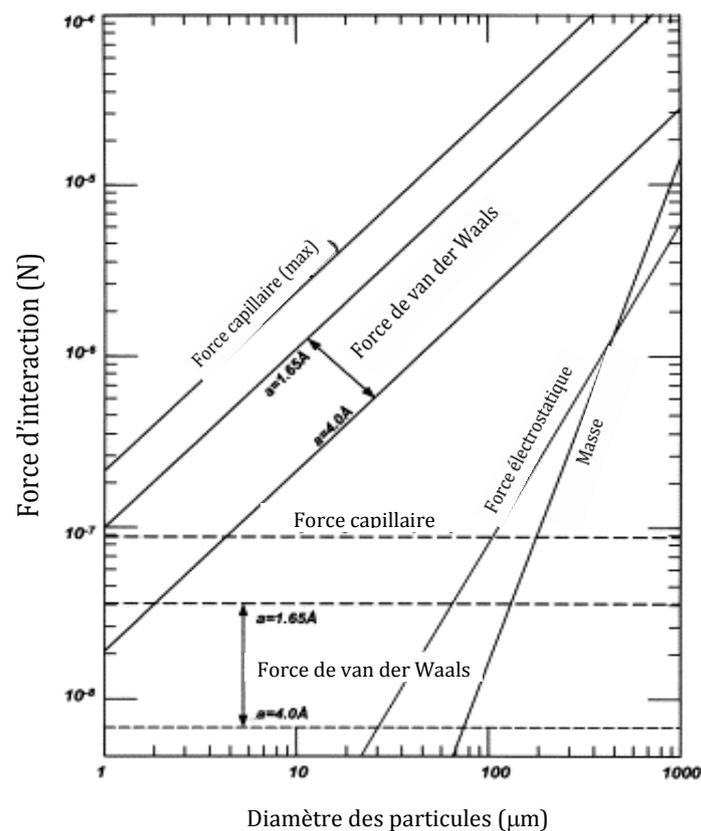


Figure.A.12 Comparaison de l'amplitude des forces d'interaction mises en jeu entre les deux sphères de taille égale dans l'air (les tracés pointillés représentent le contact entre les aspérités et la surface), selon ⁶³ (selon J. P. K. Seville et al Copyright (2000), avec la permission d'Elsevier)

Sous l'influence du procédé de conditionnement et de la gravité, un empilement des sous-structures de poudre s'est organisé. En fonction de la taille, de la forme, de la rugosité, des points de contact et encore des forces d'interaction de ces sous structures, cet arrangement est plus ou moins solide ⁷¹⁻⁷³. Cela conditionne la re-suspension d'un lit de poudre dans le fluide d'air lors d'une inhalation ^{74,75}. L'étude de l'influence de la structure d'arrangement sur l'entraînement de la poudre serait utile pour mieux appréhender le mécanisme d'aérosolisation.

4.2 Entraînement de la poudre dans le fluide :

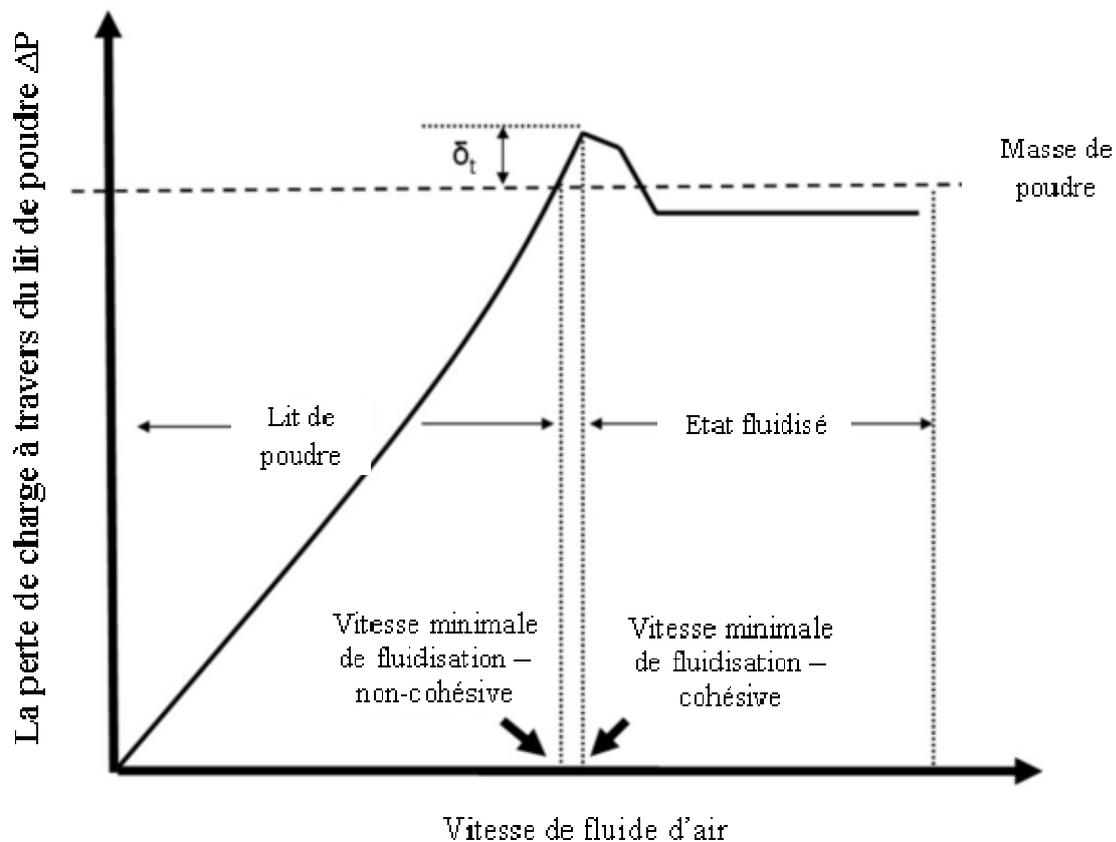


Figure.A.13 Les caractéristiques d'un lit de poudre fluidisé : la perte de charge à travers le lit de poudre en fonction de la vitesse de fluide d'air (selon J. Shur et R.Price , 2008, avec la permission de Springer)

La fluidisation est un sujet bien étudié dans la technologie des poudres. Dans le cas des particules micronisées, une fluidisation totale à l'état de particule primaire est impossible car l'interaction particulaire est très supérieure à la force gravitationnelle ⁷⁶. Les mauvaises fluidisations sont rencontrées pour ce type de poudre, notamment les phénomènes d'agglomérats, de pistonnage, de renardage... Les particules fluidisées sont sous forme : particules primaires, agglomérats naturels et agglomérats formés *in situ* par la fluidisation ⁷⁷. Les agglomérats (naturels ou *in situ*) se comportent comme des

particules non cohésives dans le fluide ⁷⁸. La présence des particules de taille plus grande (transporteur) facilite la fluidisation de poudre cohésive par l'effet de turbulence ⁷⁹ et ainsi améliore la dose émise de principe actif lors de l'inhalation ¹⁴. Pour créer un aérosol de poudre cohésive, un apport d'énergie est nécessaire pour transformer l'état statique de poudre en état aéré ⁸⁰. L'efficacité d'entraînement, évaluée par la dose émise mesurée en utilisant un tube d'entraînement standardisé, dépend de l'énergie apportée par la vibration. La dose émise s'accroît en augmentant l'énergie de vibration tandis que la reproductibilité s'améliore en augmentant la fréquence de vibration. Ce résultat permet d'adapter la conception des inhalateurs pour avoir une meilleure dose délivrée ^{81,82}.

Pour les poudres cohésives, la fluidisation peut être caractérisée par 2 étapes de part et d'autre d'une étape de transition ^{78,83}:

- l'étape de fluidisation à l'état solide (solid-like fluidization) = la perte de charge s'augmente de façon linéaire en fonction de la vitesse d'air tandis que le lit reste encore statique.
- au moment où la vitesse de fluide apporte une énergie égale au poids de lit de poudre, la vitesse minimale de fluidisation est atteinte. Cette vitesse est définie comme la vitesse minimale de fluidisation non-cohésive (VMF non-cohésive). Par contre, due à la cohésion, le lit de poudre n'est pas encore fluidisé, la perte de charge continue à s'augmenter jusqu'à une vitesse d'air définie comme la vitesse minimale de fluidisation cohésive (VMF cohésive), l'énergie apportée dépasse la cohésion du lit de poudre. Ce dernier se dilate et la fluidisation totale est ainsi obtenue. Δt , la différence entre l'énergie apportée à VMF cohésive et le poids de lit de poudre est définie comme la résistance à la traction de la poudre cohésive vis-à-vis du fluide d'air.
- l'étape de fluidisation à l'état de fluide (fluide-like fluidization) = la fluidisation est totale, la perte de charge se stabilise.

Par ailleurs, la perméabilité du mélange de poudre cohésive diminue en fonction de la concentration de fines particules et se mesure par la perte de charge à travers le lit de poudre. L'énergie de fluidisation s'accroît en fonction de la cohésivité, par l'addition de fines particules de transporteur ^{83,84}. En plus, les auteurs ont montré qu'un mélange de poudre moins perméable est fluidisé en mode de pistonnage (ou mode de paquet) tandis que celui plus perméable est fluidisé en mode continu. Ces observations sont possibles à l'aide de la visualisation de la fluidisation avec un caméscope à grande vitesse de capture ⁵⁵.

4.3. Séparation des particules fluidisées:

A l'étape de fluidisation, la séparation des particules, exprimée par l'élutriation est possible. Elle dépend de la force d'interaction entre les particules mises en jeu, la vitesse d'air et la taille des particules ⁸⁵. Cependant, la désintégration totale des agrégats et agglomérats cohésifs demande beaucoup plus d'énergie. Des mécanismes de dés-

agglomération doivent être utilisés dans les inhalateurs pour bien séparer les agglomérats et avoir des particules primaires de taille respirable ($\leq 5\mu\text{m}$) (figure A.9.C).

Due à l'interaction particulaire qui dépasse la force gravitationnelle, les fines particules ont tendance à s'agglomérer en fonction du rapport entre ces deux forces. Donc, le facteur le plus important est la taille de particule primaire ^{71,72}. L'augmentation de l'adhésion peut conduire de façon contre-intuitive, à la formation des agglomérats ayant une porosité plus importante et moins de points de contact. En effet, une adhésion forte conduit au positionnement des particules dès le premier contact à position aléatoire. Il en résulte des agglomérats ayant une cohésion totale faible mais une cohésion sur les points de contact plus importante. D'où un agglomérat plus fragile. Cependant, en fonction des conditions de contact des particules, leur porosité peut être diminué et le nombre de coordination s'accroît et donne un agglomérat plus solide ^{86,87}.

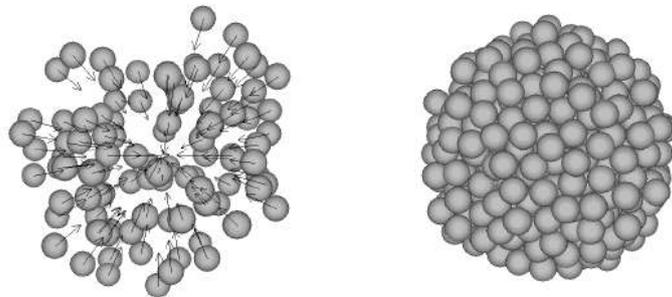


Figure.A.14 La formation d'agglomérat de fines particules cohésives selon le modèle de Kendall.

La fragmentation d'un agglomérat fait l'objet de recherche dans plusieurs domaines, surtout la caractérisation des particules. Un nouveau modèle de défragmentation totale d'un agglomérat est proposé ⁸⁸. Selon ce modèle, la force nécessaire pour la dispersion totale σ_{disp} d'un agglomérat sphérique de diamètre d_{agg} est fonction de la force de cohésion interparticulaire. Elle est calculée par l'équation :

$$\sigma_{dis} = \frac{F_{ad}(1-\varepsilon)k}{2\pi d_{Agg}^2} \left(\frac{d_{Agg}^3}{d_p^3} - \frac{4f}{b^2} \right)$$

Où ε est la porosité

d_p est le diamètre de particule primaire

k est le nombre de coordination (nombre de points de contact d'une particule avec les particules autour)

f est le ratio de surface non-contact/ surface en contact. f est calculé par

$$f = 1 - \frac{\arccos(b)}{180^\circ}$$

avec

$$b = \frac{d_p}{(d_{Agg} - d_p)}$$

où b et f prennent des valeurs $0 < b < 1$ et $0,5 < f < 1$.

Quand la taille d'agglomérat est beaucoup plus grande par rapport à celle de particule primaire ($d_{agg} \gg d_p$), l'équation peut être réduite en :

$$\sigma_{dis} = \frac{F_{ad}(1-\varepsilon)k}{2\pi} \cdot \frac{d_{Agg}}{d_p^3}$$

On peut constater que la force de dispersion totale dépend principalement de la taille de particule primaire, et avec une moindre importance du diamètre d'agglomérat, de la porosité, de la force d'adhésion et du nombre de coordination. La dispersion d'agglomérat est un phénomène complexe. La diminution progressive par étape de la taille d'agglomérat est possible.

Différentes sources d'énergie sont générées par l'interaction entre le fluide – l'inhalateur et les particules. Elles sont employées pour mieux disperser les agrégats et agglomérats de poudre. On peut citer les forces mises en jeu : la force de résistance des particules dans un fluide, la force centrifugeuse générée par la rotation des particules, la force due à la turbulence, les contraintes de cisaillement, la force électrostatique et l'impaction sur les surfaces ^{37,89}.

L'impaction est un mécanisme important de dés-agglomération des particules. Les particules fluidisées dans l'air se heurtent les unes contre les autres et contre les parois par leur inertie. Les chicanes et les obstacles dans les inhalateurs sont les exemples de l'utilisation de ce mécanisme. L'efficacité de l'impaction dépend du débit d'air, du diamètre des agglomérats et de l'inertie ⁹⁰. Par contre, elle est indépendante de l'angle d'impaction ⁶.

La turbulence est souvent une source de dés-agglomération des particules aérosolisées. Le fluide exerce sur la particule des forces de traînée dues à la friction et au gradient de pression à la surface. Les tourbillonnements sont ainsi nés jusqu'à ce qu'un nombre de Reynold (Re) critique soit atteint. A ce point, les tourbillonnements se transforment en vortex oscillant à fréquence qui s'approche de la fréquence résonnante des particules. Cela permet de séparer les particules de différentes caractéristiques. La valeur de Re critique dépend de la vitesse de fluide, l'asymétrie des particules, la rugosité et la présence des autres particules qui perturbent le régime de fluide ³⁷. La performance de dés-agglomération, évaluée par la fraction respirable présente une relation linéaire avec la turbulence mise en jeu ³⁶.

La séparation des particules adhérent est également réalisée par **le mécanisme de l'accélération brutale de la vitesse**. Le venturi et le changement brutal de diamètre de voie de conduction sont souvent utilisés pour générer l'accélération des particules dans le fluide afin de mieux disperser les agglomérats et les agrégats ⁹⁰.

Récemment, Hickey et al a développé une équation de désagrégation d'aérosol de poudre (PADE Powder Aerosol Deaggregation Equation) pour calculer la fraction respirable (FPF = Fine Particle Fraction), simulant le phénomène d'adsorption de Langmuir ⁹¹⁻⁹³. La PADE est expérimentalement prouvée en utilisant le tube d'entraînement standard sur plusieurs mélanges interactifs pour inhalations. Elle est exprimée de la façon suivante :

$$\frac{\tau_s}{FPF} = \frac{\tau_s}{FPF_{max}} + \frac{1}{k_d \cdot FPF_{max}}$$

La contrainte de cisaillement par turbulence τ_s est calculée selon la théorie de Kolmogorov :

$$\tau_s = \mu \left(\frac{\varepsilon}{\nu} \right)^2$$

Où ε est la vitesse moyenne de dissipation de l'énergie turbulente

μ et ν sont respectivement les viscosités dynamique et cinématique de l'air.

FPF_{max} est définie comme un seuil de FPF, atteint quand la contrainte τ_s s'approche la région stable.

k_d est une constante de désagrégation. Elle est similaire à la constante de Langmuir.

Bien que l'expérience avec le tube d'entraînement n'étudie que sur le mécanisme de turbulence ce résultat prévoit plusieurs implications pratiques. La similitude de l'adhésion de surface des particules avec le phénomène d'adsorption moléculaire permet d'adapter les équations d'adsorption comme BET dans le domaine de désagrégation. Les modifications de surface de lactose seraient préalablement conçues à l'aide des paramètres de surface. La PADE fournit enfin les informations pour la conception et pour l'optimisation des formulations et les inhalateurs basés sur la turbulence ⁹⁴.

V. Propriétés physicochimiques influençant la qualité et la performance aérodynamique des mélanges interactifs pour inhalation

La formulation des poudres pour inhalation doit établir un équilibre délicat entre deux critères contradictoires : l'adhésion principe actif/ transporteur doit être élevée pour assurer la stabilité du mélange mais aussi suffisamment faible pour que le principe actif soit facilement libéré du transporteur lors de l'inhalation. Les chapitres précédents ont discuté de l'importance de l'interaction particulaire sur la qualité du mélange et la performance aérodynamique. Cette interaction est fonction de plusieurs facteurs, à savoir la taille, la forme, l'état de surface (rugosité), l'hygroscopicité... des particules concernées. Une petite modification de ces propriétés peut conduire à un changement dramatique de l'homogénéité et de la performance du mélange lors d'une inhalation. Par conséquent, il est crucial de maîtriser ces propriétés au cours du développement afin d'assurer la qualité de la formulation : d'une part l'uniformité, la consistance et la maniabilité (l'écoulement...) du mélange, d'autre part l'efficacité du produit après inhalation. Toutes les propriétés physico-chimiques ayant une influence sur ces qualités doivent être connues et leurs contrôles sont critiques pour atteindre une qualité reproductible de produit et pour éviter les problèmes de qualité lors de la production.

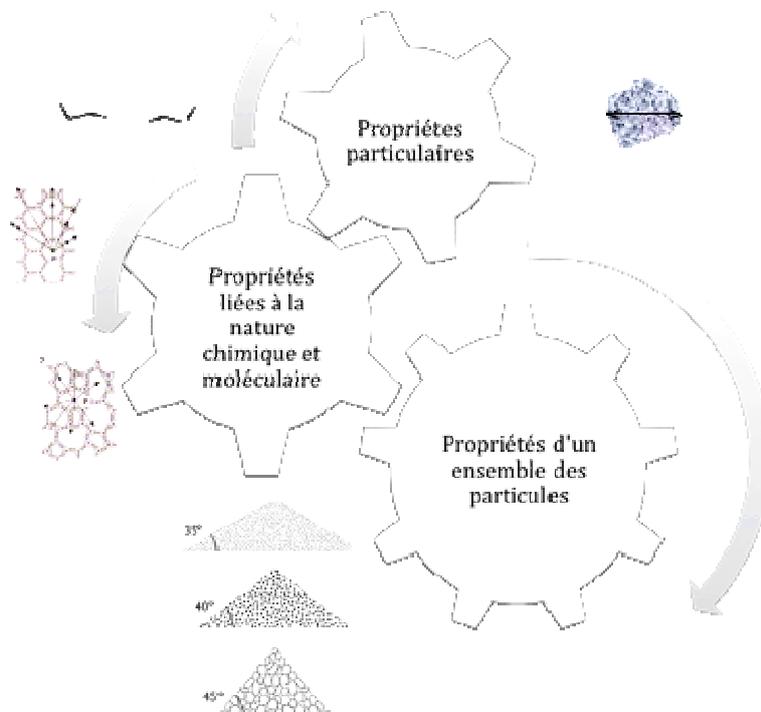


Figure A.15. Les propriétés physicochimiques des solides divisées

Les propriétés physico-chimiques des solides divisés peuvent être classées en trois catégories ⁹⁵ :

- les propriétés liées à la structure moléculaire
- les propriétés particulières
- les propriétés de l'ensemble des particules.

En réalité, ces propriétés sont interdépendantes ce qui fait que l'étude de l'influence d'une seule propriété sans prendre les autres en considération est difficile. L'interprétation des résultats obtenus doit prendre en compte de cette interférence afin d'éviter toute conclusions dépourvues de pertinence.

5.1 Propriétés liées à la nature chimique et à la structure moléculaire.

À l'étape de conception d'une nouvelle entité chimique à visée thérapeutique, la relation entre la structure chimique et les propriétés requises est toujours un sujet important. À côté des interactions moléculaires avec les récepteurs, la structure moléculaire d'une nouvelle entité chimique définit les propriétés physicochimiques qui conditionnent sa mise à disposition au site d'action physiologique, à savoir la solubilité, la balance hydrophile – lipophile, la perméabilité membranaire, la structure cristalline, l'hygroscopicité, la capacité conductrice d'un matériau...⁹⁶. Par exemple, la solubilité et la vitesse de dissolution ont une grande importance dans les formulations orales. Dans la voie inhalée, elles conservent un rôle crucial dans l'efficacité thérapeutique. La dissolution des corticoïdes dans les sécrétions bronchiques est d'autant plus lente que leur lipophilie est élevée. Une dissolution lente contribuerait à la rétention pulmonaire des corticoïdes ⁹⁷. Une plus lente dissolution des agonistes bêta adrénergiques est également favorable à une action bronchodilatatrice plus prolongée ⁹⁶. Par conséquent, lorsqu'une structure thérapeutique de base est choisie, la question restante est de trouver le sel, le solvate ou le polymorphe le plus favorable pour le délivrer aux sites thérapeutiques. En plus, dans l'économie actuellement très compétitive, cette voie ouvre la perspective de prolonger le droit exclusif d'exploitation d'une molécule thérapeutique.

5.1.1 Différents sels d'un principe actif

L'étude sur les différents sels d'un principe actif destiné à la voie inhalée est encore très limitée. Poczeck et al. a déterminé la force adhésive de différents sels de salmétérol

s'exerçant sur la surface du lactose alpha monohydrate. Les forces mesurées sont certes différentes pour les différents sels mais la prédiction à partir de la structure chimique est impossible. En plus, les différences de rugosité, de forme particulière... peuvent influencer l'adhésion ⁹⁸.

Byron et al a étudié l'évolution de la performance aérodynamique des différents sels de salbutamol en fonction de l'humidité relative et de la température de l'air aspiré à travers l'inhalateur. La fraction respirable du salbutamol base et de son sel de sulfate diminue progressivement lorsque la température et l'humidité relative augmentent. En revanche, la dispersion des sels d'adipate diéthanolate et de stéarate, plus hydrophobes, n'est pas influencée par les conditions environnementales bien que la dispersion du sel d'adipate diéthanolate soit la plus faible ⁹⁹.

Dans une étude de Price et al, différents sels de salbutamol, notamment 1-hydroxy-2-naphthoate (xinafoate), tartrate, acétate et propionate, sont micronisés avec un broyeur à jet d'air pour obtenir une taille respirable. La performance aérodynamique des mélanges binaires et ternaires avec l'alpha lactose monohydrate (fines particules de lactose utilisées comme agent ternaire) est différente. Les produits présentent une différence d'hygroscopicité : le salbutamol base, les sels de xinafoate et de propionate sont les moins hygroscopiques tandis que les sels de sulfate et tartrate absorbent le plus l'humidité. La performance aérodynamique est meilleure pour les mélanges de salbutamol base et ses sels de sulfate et xinafoate. L'intensité de dispersion est montrée corrélée avec le CAB (Cohesive – Adhesive Balance : Profil adhésif – cohésif), mesurée par la technique de microscopie à force atomique, adaptée pour ce but ¹⁰⁰.

Le choix d'un sel est un travail minutieux et intéressant lors du développement d'une nouvelle entité thérapeutique. Cela permet aux chimistes de façonner une entité de base active afin d'obtenir les propriétés physico-chimiques souhaitées notamment en ce qui concerne l'hygroscopicité, la solubilité, la stabilité et l'interaction avec l'excipient ¹⁰¹. Les résultats ci-dessus montrent l'importance du choix de sels adaptés pour les formulations pour inhalation lors du développement d'une nouvelle entité thérapeutique. Ils ouvrent également des perspectives pour contourner les propriétés indésirables des principes actifs pour inhalation déjà commercialisés.

5.1.2 Transporteurs de différentes natures chimiques

Bien que l'alpha lactose monohydrate soit le transporteur le plus utilisé, il présente certains inconvénients en particulier la présence d'une petite quantité d'amorphe qui peut influencer la qualité du mélange. En outre, le groupement aldéhyde réducteur peut

conduire à la réaction Maillard avec les groupements d'amine primaire présents dans les peptides ¹⁰². L'hygroscopicité, bien qu'elle soit modérée, est également un défaut du lactose, surtout lorsque l'humidité relative est importante (70%) ¹⁰³. D'autres sucres sont ainsi étudiés pour le remplacer comme transporteur notamment le mannitol, le sorbitol^{104,105}, le glucose, le maltitol, le xylitol ¹⁰⁶, le tréhalose, le sucrose ¹⁰⁷. Parmi ces sucres, le mannitol est le transporteur le plus envisageable pour l'inhalation grâce à son hygroscopicité très faible, l'absence de groupement réducteur et une parfaite cristallinité. Cependant, la toxicité pulmonaire du mannitol reste à vérifier. Par ailleurs, la solution de mannitol en aérosol est utilisée comme test de provocation de l'hyperréactivité bronchique pour détecter l'asthme ¹⁰⁸. Donc, des précautions doivent être prises, spécialement en ce qui concerne la granulométrie du mannitol. En outre, comme dans le cas du lactose, il est constaté que le mannitol provenant de différents fournisseurs, de différents modes de fabrications, conduit à différentes performances aérodynamiques. Les autres sucres ayant une hygroscopicité supérieure, sont moins adaptés pour les mélanges pour inhalation.

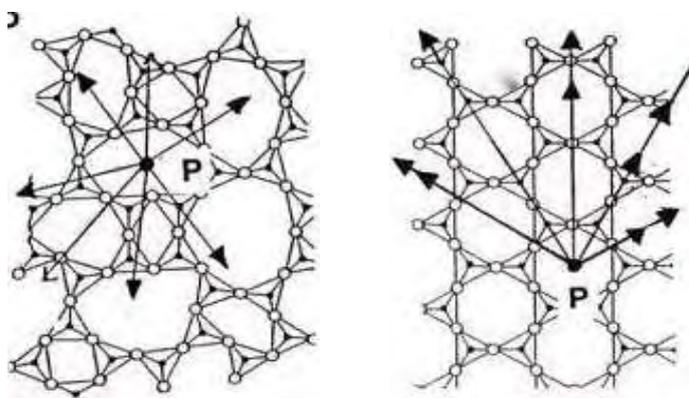
Les supports lipidiques sont également étudiés, par exemple les microparticules solides lipidiques. Grâce à leur faible toxicité expérimentale, ces supports pourraient être envisagés comme transporteurs ¹⁰⁹.

5.1.3 Cristallinité et amorphe

La matière solide peut exister à l'état cristallin où les molécules se sont organisées de façon ordonnée ou à l'état amorphe où les molécules sont réparties de façon aléatoire comme dans les liquides. L'état amorphe résulte généralement d'une précipitation ou d'un séchage rapide ¹¹⁰, d'un refroidissement brutal ou d'une lyophilisation. De plus, les procédés utilisant une énergie importante comme la micronisation et le mélange à haut cisaillement peuvent induire des désordres dans la structure cristalline, surtout des zones amorphes localisées à la surface ¹¹¹⁻¹¹³. Une corrélation linéaire entre l'énergie d'activation mécanique et la quantité de région amorphe est démontrée ¹¹⁴. Bien que la quantité totale d'amorphe soit faible, elle est répartie à la surface des particules où il y a la fragmentation. Par conséquent, le produit final présente les propriétés de surface prédominantes de la région amorphe.

À cause de l'organisation différente des molécules, l'état cristallin ou amorphe d'une matière présente des propriétés physiques très différentes ¹¹⁵. Grâce à la structure ordonnée, les cristaux sont anisotropes, le transfert de lumière ou de force à travers ces cristaux suit une direction préférentielle. Au contraire, il est uniforme dans le cas d'une

substance amorphe (figure A.16). Les propriétés élasto-plastiques sont différentes, les substances amorphes sont plus plastiques tandis que les produits cristallins sont plus fragmentables ¹¹⁶. Cette différence peut conduire à une interaction différente entre les particules lors d'un mélange où des forces mécaniques sont mises en jeu. La matière amorphe possède une énergie thermodynamique plus élevée que la forme cristalline, par conséquent, les substances amorphes se solubilisent plus vite que les cristallines. Ainsi, les principes actifs inhalables à l'état amorphe de l'alprazolam et de la prochlorperazine ont une dissolution très rapide dans les alvéoles. Leur biodisponibilité générale peut atteindre 80% et la Cmax est obtenue 20s après l'inhalation ¹¹⁷. D'autre part, la matière amorphe tend à une évolution dans un état énergétique inférieur par cristallisation. De plus, leur réactivité chimique est plus importante, d'où une réduction de la stabilité ¹¹⁸. Enfin, les amorphes peuvent absorber l'humidité environnementale. L'eau absorbée réagit comme un plastifiant qui accélère le processus de recristallisation ¹¹⁴. L'instabilité des amorphes n'est pas intéressante dans la formulation. La recristallisation conduit à des changements importants de propriétés de surface, de morphologie des particules ¹¹⁹. La différence de propriétés physiques conduit à une modification incontrôlable de l'interaction particulaire dans le mélange, d'où l'importance de contrôler la quantité d'amorphe et de stabiliser les amorphes.



État amorphe – isotrope

État cristallin – anisotrope

Figure.A.16 Représentation schématique de l'état cristallin et amorphe

Pour déterminer la quantité d'amorphe, surtout les faibles quantités, plusieurs techniques sont disponibles. On peut trouver la comparaison de différentes méthodes de détermination d'amorphe dans le tableau A.4 suivant (selon ¹²⁰, ¹²¹ et ¹²²).

Tableau A.4. Les méthodes pour l'analyse quantitative de l'amorphe

	PXRD	DSC	IMC	SC	IR	FT Raman	DVS	NMR
Temps d'analyse (min)	6-60	6-40	30-240	60-120	10-60	6-120	300-6000	300-6000
Quantité d'échantillon (mg)	300-400	4-10	20-300	10-70	5-50	2000	< 10 mg	500-700
LOD/LOQ	~10%	~5%	0,5%	1%	1-2%	<1%	0,1% - 100%	0,5%
Standard interne	Oui/Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non	Non
Destructive	Non	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Oui	Non
Phase de détection	Cristalline	Deux phases	Amorphe	Deux phases	Deux phases	Deux phases	Amorphe	Deux phases
Capacité de différencier l'amorphe de surface ou de l'ensemble	Non	Non	Oui	Oui	Non	Non	Non	Non
Remarques	Influence de la taille des particules	Changement thermique possible lors du balayage	Manque de spécificité, interprétation délicate	Difficulté de distinguer les différents processus pendant la dissolution	Quantitative soustraction de chevauchement	Méthode complémentaire pour IR	Choix attentif des conditions pour recristallisation	Applicable seulement pour les molécules ayant carbone

Notes : PXRD : diffraction de rayons X sur poudre ; DSC : analyse calorimétrique différentielle à balayage ; IMC : Microcalorimétrie Iso thermique ; SC : calorimétrie de solution ; IR : spectroscopie infrarouge ; FT Raman : Spectroscopie de Raman avec transformation de Fourier ; DVS : analyse de sorption dynamique de vapeur ; NMR : résonance magnétique nucléaire

Louey et al. (2001) ont montré qu'il existait à la surface du lactose des sites où les amplitudes de la force d'adhésion sont différentes, ce qui résulte probablement de la présence de structures amorphes. Or, l'amorphe possède une grande énergie de surface qui renforce l'adhésion et donc limite le détachement du principe actif ¹²³. En accord avec cet argument, le mélange de budésonide avec l'alpha lactose monohydrate fraîchement nébulisé ayant 64% d'amorphe a délivré une faible fraction respirable par rapport à celui de l'alpha lactose monohydrate totalement cristallin. Après avoir été conservé à haute humidité relative (70%) pendant un mois, la partie amorphe du lactose recristallise totalement et la fraction de particules fines de principe actif obtenue à partir de ce mélange est ainsi améliorée ¹²⁴.

Pour générer des particules inhalables de principes actifs, la micronisation et l'atomisation sont souvent utilisées. Le produit ainsi obtenu possède une quantité plus ou moins importante d'amorphe, en fonction de l'énergie apportée par le processus. L'agglomération des particules est observée et attribuée à la recristallisation de la partie amorphe. La stabilité du produit est améliorée après le mûrissement ¹²⁵. En fonction du ratio d'éthanol dans la solution de cromoglycate disodique, le procédé de nébulisation conduit à des produits ayant différentes quantités d'amorphe. Le cromoglycate disodique parfaitement cristallin (obtenu à partir de la solubilisation dans 100% d'éthanol) présente une meilleure dispersion dans l'air inhalé. La fraction de fines particules diminue lorsque le taux d'amorphe du produit augmente ¹²⁶.

L'augmentation de la force adhésion à cause de la zone amorphe sur la surface peut être compensée par la forme différente des particules. Dans une étude de comparaison du sulfate de terbutaline micronisé et du sulfate de terbutaline nébulisé à partir d'une solution aqueuse, Flament et al ont montré que ce dernier est principalement amorphe ¹²⁷. Par contre, son mélange avec un transporteur permet d'obtenir une fraction respirable meilleure que celle obtenue à partir du mélange avec le sulfate de terbutaline micronisé. Ceci peut être expliqué par le fait que les points de contact des particules atomisées avec le transporteur sont beaucoup plus faibles par rapport à celles des particules micronisées du fait de la sphéricité des particules nébulisées. Ces résultats ont confirmé une autre étude précédente ¹²⁸.

Le changement des propriétés du produit fini doit être évité pour assurer la constance de qualité. Différents méthodes sont employées pour soit produire des particules respirables parfaitement cristallines ¹²⁹, soit accélérer la recristallisation de la partie amorphe. Une étude récente a constaté que l'utilisation de fluide carbonique supercritique en présence de menthol permettait une recristallisation totale du sulfate

de salbutamol micronisé en 24h. La performance aérodynamique du produit est améliorée alors que la forme et la taille des particules ne sont pas changées ¹³⁰.

5.1.4 Phénomène polymorphique et pseudo polymorphique

Un composé moléculaire peut exister sous forme de plusieurs variétés cristallines polymorphiques. Différents polymorphes possédant différentes énergies internes ont des propriétés différentes, notamment la forme de particule, la rugosité, la stabilité, la solubilité, l'hygroscopicité, et donc la biodisponibilité. La forme polymorphe est donc importante et doit être bien déterminée lors de la formulation. L'habitus du cristal, en fonction des conditions de la cristallisation, décrit la morphologie des particules et affectera les interactions entre celles-ci (figure A.17). En plus, en développant prioritairement une facette, les groupements chimiques exposés à la surface sont différents d'où les différentes forces d'interaction et la différence de balance hydrophile – lipophile.

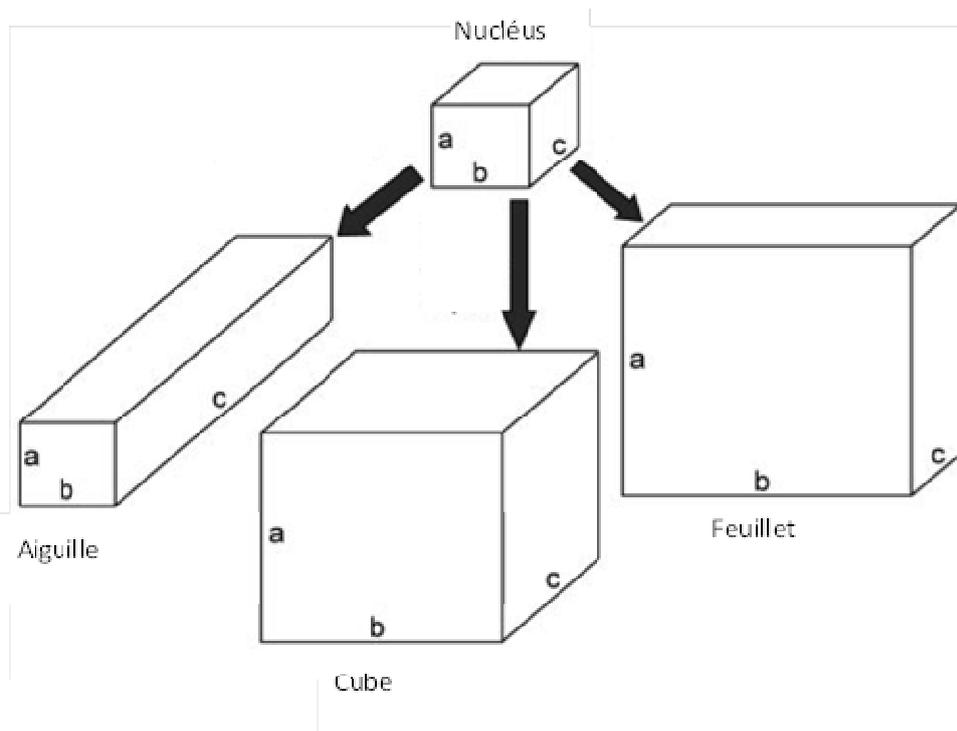


Figure A.17 : Habitus du cristal : la croissance inhibée dans quelques directions spatiales donne des particules de différente morphologie

En plus, l'inclusion des molécules de solvant dans le cristal lors de la fabrication peut produire différentes formes de solvates. Ces derniers peuvent être définis comme des pseudo-polymorphes ou solvatomorphes ¹³¹. Plusieurs techniques sont disponibles pour déterminer la présence de polymorphisme et la structure des polymorphes. Les

différentes températures de fusion des polymorphes peuvent être détectées par les techniques d'analyse thermique (DSC). La mesure de densité vraie par le pycnomètre à hélium permet également de différencier les polymorphes. La structure cristalline est caractérisée par la diffraction de rayon X sur un cristal seul ou sur la poudre. Un simple dosage de teneur en eau par une méthode appropriée, par exemple la méthode de Karl-Fisher ou par la thermogravimétrie, est un moyen efficace de déterminer les différents hydrates et solvates ¹³². Les nouvelles techniques pour déterminer le polymorphisme sont détaillées dans une publication récente ¹³³.

Le lactose, principal transporteur dans les mélanges pour inhalation, est un excellent exemple du phénomène polymorphique et pseudo-polymorphique. En fonction du mode de fabrication, le lactose peut se présenter sous des formes polymorphiques différentes :

- Le α -lactose monohydrate ($L\alpha-H_2O$) ;
- Le α -lactose anhydre hygroscopique ($L\alpha H$) ;
- Le α -lactose anhydre stable ($L\alpha S$) ;
- Le β -lactose (anhydre) ($L\beta$) ;
- Le(s) composé(s) moléculaire(s) α/β , de stœchiométries variables ($L\alpha/\beta$).

Les différents polymorphes et solvatomorphes ont différentes propriétés, à savoir l'aptitude à compression, la forme, l'hygroscopicité... Due à l'hygroscopicité importante, l'alpha lactose anhydre hygroscopique est rarement utilisé dans le domaine pharmaceutique. La forme anhydre stable a été commercialisée pour la compression directe ¹³⁴. Cependant le produit est retiré du marché faute de stabilité et de l'augmentation de temps de désintégration ¹¹⁶. 98% des formulations pour inhalation utilisent le α -lactose monohydrate ¹³⁵, tamisé ou broyé ¹³⁶. Les autres polymorphes et pseudopolymorphes ont été étudiés pour la même utilisation. En général, la performance aérodynamique des mélanges de sulfate de salbutamol micronisé suit l'ordre décroissant suivant : α -lactose monohydrate > β -lactose (anhydre) > β -lactose (anhydre) éliminé d' α -lactose > α -lactose anhydre. Cet ordre de la performance est inversement corrélé avec l'énergie totale de surface ¹³⁷. Dans une autre étude, les caractéristiques du β -lactose (anhydre) sont étudiées dans l'objectif de l'utiliser dans les formulations pour inhalation. Les auteurs ont montré que les performances aérodynamiques désirées pouvaient être obtenues avec les mélanges de β -lactose anhydre et de budésonide, spécialement avec les transporteurs ayant une énergie de fluidisation importante. Les formulateurs doivent adapter les caractéristiques des transporteurs (taille, forme, rugosité, distribution granulométrique, etc.) pour avoir une

qualité optimale ¹³⁸. Des précautions doivent être prises dans le cas d'utilisation de β -lactose anhydre car celui-ci est plus hygroscopique que la forme alpha monohydrate lorsque l'humidité relative est supérieure à 75% ¹³⁹

Dans les mélanges interactifs, différents polymorphes de principe actifs interagissent différemment avec l'excipient. L'homogénéité des mélanges est ainsi différente, en dépit d'un polymorphe préférentiel ayant une faible affinité vis-à-vis des particules d'excipient ¹⁴⁰. Pour les principes actifs pour la voie inhalée, les différents polymorphes peuvent avoir des propriétés de dispersion dans l'air totalement différentes ¹⁴¹. Les différentes conditions de cristallisation permettent d'obtenir différentes formes polymorphiques. Le broyage fin peut conduire également à la transformation polymorphique, surtout dans le système énantiotrope, comme dans le cas de xinafoate de salmétérol ¹⁴². Les forces d'interaction de différents habitus cristallins de budésonide, obtenus par la cristallisation dans différents solvants, avec différents transporteurs sont totalement différentes. Elles peuvent conduire à un changement de performance aérodynamique inattendu ¹⁴³. Le polymorphe alpha d'un stéroïde KSR-592 est en forme de plaque. En changeant le solvant de cristallisation, la forme cristalline d'aiguille est obtenue. Il s'agit du polymorphe bêta. Son mélange avec l'alpha lactose monohydrate donne une meilleure fraction des fines particules par rapport à la forme alpha du départ ¹⁴⁴. L'anhydre et le monohydrate de bromure de tiotropium sont très hygroscopiques. Les produits doivent être bien protégés de l'humidité environnementale. Les formes solvates sont plus stables ¹⁴⁵.

Par conséquent, les arguments pour le choix d'un polymorphe, d'un habitus ou d'un solvate doivent être judicieusement établis lors du développement chimique d'un produit potentiel pour inhalation.

5.1.5 Hygroscopicité – Interaction solide /vapeur d'eau

L'hygroscopicité d'un produit est définie par sa nature chimique, la forme cristalline et la taille des particules. La quantité d'eau adsorbée dépend également de la structure d'empilement des particules, d'où l'influence de la granulométrie de la poudre ¹³⁹. Elle est déterminée par l'étude des isothermes d'adsorption et de désorption de vapeur d'eau en exposant la poudre à différentes humidités relatives jusqu'à l'équilibre ¹⁴⁶. De nouvelles techniques pour étudier l'interaction poudre – vapeur d'eau ont été récemment développées comme la sorption dynamique de vapeur ¹⁴⁷.

La cohésion via la force capillaire se produit en présence d'humidité adsorbée à la surface des particules ¹⁴⁸. L'hygroscopicité des particules et l'humidité relative de l'environnement affectent l'amplitude de cette force. Par exemple, la libération du cromoglycate de disodium, très hygroscopique, diminue énormément lors du stockage à humidité supérieure à 40% car son adhésion sur le lactose est renforcée. Par contre, la libération du sulfate de salbutamol, non-hygroscopique, ne diminue que pour des conditions d'humidité supérieures à 60% ¹⁴⁹⁻¹⁵¹.

Les solides hygroscopiques sont également moins stables au changement d'humidité relative et de température environnementale. En les exposant à une humidité relative croissante, l'épaisseur de la couche de vapeur d'eau sur la surface des particules augmente. L'humidité relative n'affecte que la quantité d'eau à la surface, pas l'eau emprisonnée dans la structure cristalline ¹⁵². Une augmentation de l'humidité et un changement de température lors du stockage entraînent un phénomène de dissolution locale puis recristallisation à la surface, même si le matériau est peu hygroscopique ¹⁵³. Les particules s'agglomèrent de façon irréversible en formant des ponts solides entre elles et donc deviennent très difficiles à disperser ¹⁵⁴. Les ponts solides formés entre les particules de transporteurs et les particules de principe actif dépendent de la capacité de sorption d'eau du transporteur ^{155,156}.

La présence d'eau à la surface des particules facilite la décharge électrostatique. Pour les particules hygroscopiques, la charge électrostatique est facilement dissipée en augmentant l'humidité relative tandis que pour la poudre non-hygroscopique, cette charge persiste ¹⁵⁷. Cette relation est logarithmique et totalement indépendante de la nature des substrats hygroscopiques ¹⁵⁸.

L'importance des conditions environnementales du mélange sur la qualité du mélange est bien reconnue ¹⁵⁹ mais l'étude sur la performance aérodynamique reste limitée. L'influence de l'humidité relative sur la stabilité du mélange et sur la libération de la substance active doit être alors évaluée en vue de déterminer les conditions de stockage convenables.

5.1.6 Capacité conductrice - isolante

La nature chimique définit la structure cristalline et la configuration électronique des matériaux. En fonction de la résistivité, la substance est soit isolante soit conductrice. Cela conditionne ainsi l'acquisition et la stabilité de la charge électrostatique des particules lors de leur déplacement les unes contre les autres ou de la friction sur une surface ¹⁶⁰. Tout matériau, qu'il soit conducteur ou isolant, peut se charger par friction.

Par contre, le conducteur peut répartir la charge sur toute sa surface. Il peut la perdre très vite lorsqu'il est relié à la terre. Une charge créée par un isolant ne peut pas se mouvoir. Elle reste localisée en surface et la décharge se fera très lentement et de façon discontinue. La plupart des matières organiques, donc les produits pharmaceutiques, est isolant, d'où l'importance du phénomène électrostatique lors de la manipulation des poudres. En fonction de la structure chimique et cristalline, la charge générée peut être négative ou positive. La charge négative est générée à la surface de la particule de lactose quand cette dernière est en contact avec une surface métallique ou en verre. Par contre, une charge positive est obtenue quand il s'agit d'une surface en plastique. Dans le cas du sulfate de salbutamol, la charge est toujours positive ¹⁶¹.

Le phénomène électrostatique est très complexe et dépend des autres propriétés particulières et de la population. Il sera discuté en plus détail dans la partie des propriétés de l'ensemble de particules.

5.2 Propriétés particulières

5.2.1 Taille des particules et distribution granulométrique

La taille des particules est le facteur essentiel d'un solide. Il définit les autres propriétés d'un solide comme les propriétés de la population de particules et les forces d'interaction. En diminuant la taille, les forces d'interaction inter-particulaires augmentent et dépassent les forces de gravité ^{87,87}.

L'expression de taille des particules par un paramètre n'est pas facile car les particules solides sont rarement sphériques. Pour faciliter l'expression de taille, le diamètre équivalent est souvent utilisé. Bien entendu, la dénomination du diamètre dépend de l'équivalence physique observée. Les significations physiques des diamètres équivalents souvent utilisés dans le domaine pharmaceutique sont présentées dans le tableau A.5 suivant ¹⁶²⁻¹⁶⁴:

Tableau A.5. Définition des diamètres utilisés dans le domaine pharmaceutique

	Significations physiques	Méthode de mesure
Diamètre de Martin (d_{Martin})	Longueur moyenne de la sécante qui partage l'aire de surface analysée	Microscopie optique
Diamètre de Feret d_{feret}	Longueur moyenne de la distance entre deux droites parallèles tangentes aux extrémités de la particule	Microscopie optique
Diamètre de tamis	$\frac{1}{2}(a_1 + a_2)$, a_1 et a_2 sont les ouvertures de mailles de tamis	Tamisage
Diamètre de Heywood	Diamètre de la sphère ayant même aire de surface projetée que la particule placée dans sa position la plus stable, observée perpendiculairement à cette surface	Microscopie optique
Diamètre équivalent de surface spécifique	Diamètre de la sphère ayant même aire de surface que la particule	Perméabilimétrie, la mesure de surface selon B.E.T
Diamètre équivalent de volume	Diamètre de la sphère ayant même volume que la particule	Méthode de mesure de l'impulsion électrique (Coulter Counter)
Diamètre de Stockes	Diamètre de la sphère ayant même vitesse de chute due à la pesanteur que la particule (selon la formule de Stockes)	Elutriation, sédimentation
Diamètre équivalent aérodynamique	Diamètre de la sphère (densité =1) ayant même vitesse de chute dans le fluide que la particule	Aerosizer® (temps de vol des particules)
Diamètre équivalent de diffraction de lumière	Diamètre de la sphère ayant une même image de diffraction que la particule, obtenue par la diffraction de lumière	Méthode de diffraction LASER, de lumière...

La poudre est constituée par une population de particules de tailles variables. Le mode de représentation le plus classique et le plus fréquent des distributions granulométriques est le diagramme semi-log. Les méthodes d'analyse granulométrique sont nombreuses et citées de façon non exhaustive dans le tableau. La précaution doit être prise lors de l'interprétation des résultats de distribution granulométrique car ces différentes méthodes mesurent différentes grandeurs physiques. En cas de poudre cohésive, spécialement les particules fines ayant une interaction particulaire élevée, la dispersion totale est nécessaire pour avoir un résultat fiable. Cette opération est délicate car les forces de dispersion doivent être suffisamment importantes pour individualiser les particules cohésives mais pas trop élevées pour fragmenter les particules et engendrer ainsi des artefacts ¹⁶⁵.

La taille des particules est un facteur de grande importance qui détermine le niveau de dépôt pulmonaire et ultérieurement l'effet thérapeutique du médicament. En étudiant l'efficacité thérapeutique de différentes tailles de sulfate de terbutaline micronisé, à savoir inférieure à 5 µm, de 5 à 10 µm et de 10 à 15 µm, un effet bronchodilatateur supérieur est observé par inhalation de particules inférieures à 5 µm ¹⁶⁶. Un résultat similaire est obtenu en étudiant l'effet de taille du même principe actif seul via le Turbuhaler sur l'amélioration de la fonction pulmonaire ¹⁶⁷. Cette gamme de taille est souhaitée pour atteindre les niveaux profonds des poumons. Dans une étude sur l'influence de taille sur la performance aérodynamique du mannitol, des particules respirables de différentes tailles sont produites par différentes techniques (à savoir le broyage fin et la nébulisation). Les auteurs ont ensuite comparé la dispersion dans l'air de ces fractions de tailles différentes. Un faible changement en taille a des effets majeurs sur la dispersion des particules ¹⁶⁸.

Les transporteurs sont utilisés dans la formulation afin de faciliter l'écoulement et la fluidisation lors de l'inhalation. Pour la décharge de la poudre à travers la capsule perforée dans le Spinhaler®, la taille optimale du lactose est de l'ordre de 70-100 µm ¹⁴. Dans l'interaction particulaire, les forces de Van der Waals s'exercent significativement lors du contact des particules et décroissent avec la distance selon une loi de puissance ^{57,58}. La taille des particules en interaction est un des facteurs déterminant l'intensité de la force d'interaction. Selon l'équation de la force de Van der Waals, la force d'interaction s'accroît en augmentant la taille des particules mises en jeu. Plusieurs études ont montré

l'influence de la taille du transporteur sur la performance aérodynamique de leurs mélanges. Cette dernière est améliorée lors de la diminution de taille des particules de transporteurs ^{161,169-173}. Cependant, la diminution de la taille du transporteur conduit à un mauvais écoulement. Elle prolonge également la durée de temps nécessaire à l'obtention d'un mélange d'une homogénéité satisfaisante. ¹³⁴.

L'influence de la polydispersité de taille des transporteurs sur la performance aérodynamique est un sujet de recherche bien étudié ¹⁷³. Différents grades de lactose ayant des concentrations croissantes de fines particules (intrinsèques ou extrinsèques) sont mélangés avec le principe actif. L'addition de fines particules de lactose (VMD = 7µm) améliore la performance aérodynamique du dipropionate de béclo métasone ¹⁷⁴. La taille optimale de lactose fin pour améliorer la dispersion aérodynamique est inférieure à 10 µm ¹⁷⁵. Une augmentation de la fraction respirable du sulfate de salbutamol avec la concentration en lactose fin a été constatée. Cette linéarité est applicable quand la concentration de lactose fin est inférieure à 10%. Au-dessus de ce seuil, une linéarité inverse est remarquée. En plus, aux concentrations élevées de lactose fin, l'homogénéité des mélanges est diminuée ^{176 177}.

L'effet de la taille du transporteur dans les processus dynamiques comme le mélange et la fluidisation est récemment étudié. L'augmentation de taille particulaire de l'excipient facilite la destruction des agglomérats de principe actif par un effet « broyeur à boulets » ¹³⁴. Les grandes particules de transporteurs apportent une « force d'appui » lors du mélange qui aide à la dés-agglomération des particules cohésives. Cette force dépend évidemment de la taille de particules. Par contre, la force d'appui nuit à la libération du principe actif car elle accentue l'adhésion à la surface des particules de transporteur ¹⁷⁸. Lors d'une étude sur des particules sphériques ayant une faible rugosité, les auteurs ont proposé plusieurs mécanismes pour expliquer l'influence de la taille du transporteur sur le phénomène d'adhésion et de fluidisation, à savoir :

- L'augmentation de taille conduit à la diminution du nombre de particules par masse et ainsi à la réduction d'aire de surface pour l'adhésion.
- Lors du mélange, la force d'appui diminue quand la taille réduit
- Lors de l'aérosolisation, la taille est impliquée dans deux mécanismes de dés-agglomération des particules :
 - o **L'impaction** dont l'intensité est fonction de la taille de transporteur

- **La collision** entre les particules dont l'intensité est réduite lorsque le nombre de collision augmente après diminution de la taille.

Ces mécanismes sont présentés dans la figure suivante selon ¹⁷⁹

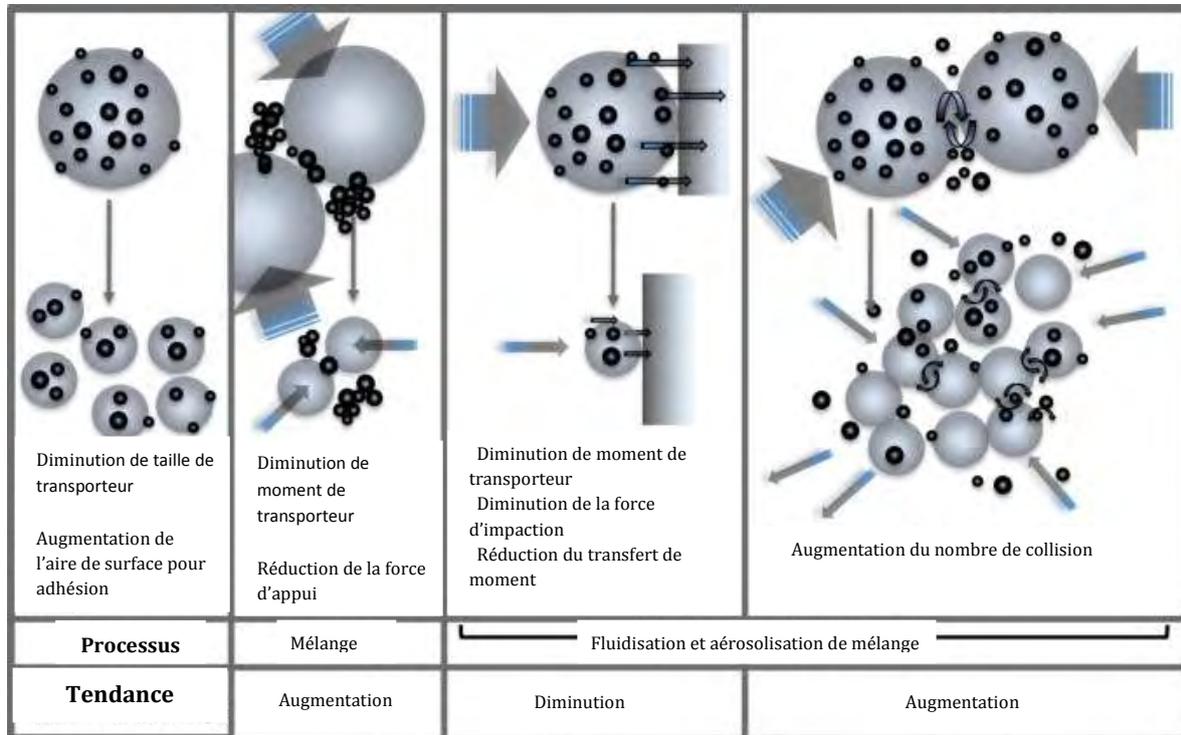


Figure A.18 : Influences de la taille du transporteur lors du mélange et de l'aérosolisation (Selon P.Young, 2011, avec la permission d'Elsevier Ltd)

La complexité de l'effet de taille du transporteur a été largement étudiée. Par conséquent, le choix de la taille du transporteur doit être réalisé de façon délicate pour trouver un bon équilibre entre l'homogénéité, l'écoulement et la dispersion aérodynamique.

5.2.2 Forme des particules

Les particules solides prennent souvent des formes irrégulières qui sont très différentes de la sphéricité. La forme des particules est exprimée par le facteur de forme (χ), à savoir le ratio d'élongation, le ratio d'aspect, la circularité, la sphéricité...⁵⁶.

L'écoulement de la poudre est influencé par la forme des particules. Bien que la taille des particules concernées soit petite, la sphéricité facilite l'écoulement tandis que les particules aciculaires nuisent à l'écoulement de la poudre. Pour avoir une homogénéité

acceptable, un temps important de mélange est nécessaire pour des particules en forme d'aiguilles. De plus, dans un tel mélange il y a facilement ségrégation des particules ¹⁸⁰. Lors d'une étude sur l'influence de la forme des particules dans le système d'inhalation des poudres, des particules de taille respirable avec des formes différentes sont produites à partir de matériaux inorganiques. Les interactions particulières sont importantes pour les particules de forme aciculaire (aiguille) et plate qui forment ainsi des agglomérats. La dose émise est importante mais la fraction respirable est faible à cause de l'interception. Les interactions particulières sont plus faibles chez les particules sphériques que chez les particules cubiques. La forme de pollen donne de meilleures doses émises et fractions respirables car la rugosité et la forme sphérique permettent un contact minimal entre les particules ¹⁸¹.

La forme des particules affecte les points de contact entre elles et donc l'amplitude des forces de Van der Waals. La surface de contact et les points de contact sont plus faibles pour les particules sphériques. L'adhésion sera d'autant plus forte entre le principe actif et le transporteur que les particules seront moins sphériques. Les études sur les particules sphériques obtenues par la nébulisation confirment cette observation ^{127,128,182}. En plus, la dispersion et l'entraînement dans l'air sont plus faciles quand les particules sont sphériques¹⁶¹.

Par des méthodes de cristallisation spécifiques, des cristaux en forme d'aiguille de sulfate de salbutamol sont obtenus. Leur mélange avec un transporteur donne une meilleure performance aérodynamique par rapport à celui avec des cristaux ayant un ratio d'élongation inférieur. Cependant, l'homogénéité du mélange est détériorée ¹⁸³. L'optimisation des conditions de fabrication des particules est nécessaire pour avoir les formes désirées ^{26,184,185}.

5.2.3 Etat de la surface – Rugosité

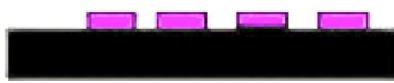
Les particules solides sont rarement lisses. Elles ont des pores et des aspérités à la surface. La mesure de la rugosité a été réalisée par plusieurs techniques. Chaque valeur mesurée a une signification différente en fonction du principe physique mis en oeuvre. La limite de taille de pores mesurée dépend également de chaque méthode. On peut citer les définitions de rugosité suivantes :

- Ratio de la surface spécifique mesurée par la méthode de perméabilimétrie avec la surface spécifique théorique calculée à partir du diamètre de sphère équivalente ¹⁸⁶.
- Ratio de la surface spécifique mesurée par la méthode de perméabilimétrie avec la surface spécifique mesurée par la méthode d'adsorption gazeuse selon BET ¹⁸⁷
- Ratio de la surface spécifique mesurée par la méthode d'adsorption gazeuse selon BET avec la surface spécifique calculée à partir de la distribution granulométrique ¹⁸⁸
- Paramètre non dimensionnel par le calcul sur l'image de microscopie électronique à balayage ¹⁸⁷
- Facteur de surface par le calcul sur l'image de microscopie optique ¹⁸⁹
- Paramètre de rugosité calculé à partir des échelles de gris sur l'image de microscopie optique ¹⁹⁰
- Paramètres de rugosité par la méthode de profilométrie laser ¹⁹¹.
- Paramètres de rugosité par la méthode de la microscopie à sonde locale (Scanning probe microscopy) ¹⁹²
- Paramètres de rugosité par la méthode de la microscopie à force atomique (Atomic force microscopy) ¹⁹³

L'interaction entre deux surfaces solides se produit lorsque les aspérités nanoscopiques et microscopiques se mettent en contact. L'influence de la taille des pores de surface devient importante sur la force d'interaction de type Van der Waals lorsque leur taille dépasse 20 nm ⁵⁸. Les pores de surface diminuent l'aire de surface de contact réelle. Ils réduisent ainsi l'amplitude de l'interaction particulaire d'où une réduction de l'adhésion ¹⁸⁸. La présence d'aspérités ayant la taille micrométrique à la surface du transporteur joue également le rôle de piège des particules de principe actif de plus petite taille et empêche ces dernières de se détacher du transporteur lors de l'inhalation ¹⁷². Les scénarios d'interaction particulaire sont résumés dans la figure A.19 (selon ¹⁹³).

A partir des modèles de calcul d'interaction particulaire, la cohésion entre les particules fines ondulées est trouvée plus faible que celle entre les particules lisses. Des particules ondulées de principe actif sont produites par la méthode de nébulisation. La fraction de particules fines augmente avec le degré d'ondulation ¹⁹⁴. La forme de pollen des particules fines ayant une rugosité nanométrique permet de réduire considérablement

l'interaction inter-particulaire, d'où une augmentation de l'écoulement et de la dispersion aérodynamique ¹⁸¹.



Surface très lisse : aire de contact importante

Avantage : très bonne homogénéité



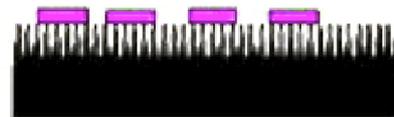
Surface rugueuse microscopique : aire de contact importante

Avantage : bonne homogénéité



Surface rugueuse idéale : aire de contact réduite

Avantages : homogénéité acceptable



Surface rugueuse nanométrique : aire de contact faible

Avantages : adhésion réduite, libération améliorée

Figure A.19. Interaction particulaire en fonction de la rugosité de la surface (selon P. Young, 2008, avec la permission de Elsevier Ltd)

Dans un mélange interactif avec un principe actif micronisé cohésif, des agglomérats et des particules fines sont trouvés au niveau des aspérités et cavités de surface des grandes particules ⁶⁶. Un certain niveau de rugosité empêche la ségrégation du mélange, d'où une bonne homogénéité et stabilité du mélange ¹⁹⁰. Cependant, la fraction respirable des mélanges avec des particules rugueuses micrométriques diminue avec la rugosité, dû à l'emprisonnement des particules de principe actif dans les cavités et les aspérités ^{171,186,187,190}. L'addition d'une quantité raisonnable d'un agent ternaire (stéarate de magnésium ou fines particules de lactose) va saturer les sites de haute énergie et les cavités de surface. Cela laisse le principe actif occuper les sites de plus faible énergie ce qui réduit l'adhésion entre celui-ci et le transporteur, la performance aérodynamique des mélanges est ainsi améliorée ^{25,195-197}. Une autre hypothèse suggère que ces fines particules d'agent ternaire forment avec les particules de principe actif des agglomérats qui se dispersent plus facilement lors de l'aérosolisation ^{69,198}.

Des modifications de surface du transporteur sont réalisées afin d'obtenir une rugosité souhaitée. Une procédure de « lissage » du lactose a été développée à partir de la méthode de granulation humide. Dans cette procédure, une solution hydro-alcoolique, avec ou sans adjuvant, est utilisée comme liquide mouillant. Après le traitement, une surface plus lisse des particules améliore l'écoulement des lactoses traités ¹⁹⁹. Concernant l'adjuvant, l'isoleucine permet d'améliorer la fraction respirable du mélange du lactose traité avec le sulfate de salbutamol tout en conservant la même dose émise. Le stéarate de magnésium double la fraction respirable du mélange du lactose traité avec le sulfate de salbutamol, et la triple dans le cas du dipropionate de béclo mé tasone ²⁰⁰. Une rugosité contrôlée des particules de transporteur permet de réduire l'adhésion du principe actif à sa surface ²⁰¹.

5.2.4 Densité

Le comportement des particules dans le fluide d'air est défini par le diamètre aérodynamique. Ce dernier peut être défini par l'équation ci-dessous qui tient compte de la forme et de la densité des particules ¹⁷

$$D_{\text{aérodynamique}} = D_{\text{équivalent}} \sqrt{\frac{\rho_p}{\chi \rho_0}}$$

avec $D_{\text{aérodynamique}}$ = diamètre aérodynamique de la particule

$D_{\text{équivalent}}$ = diamètre équivalent de la sphère

ρ_p = densité particulaire ρ_0 = densité unitaire

χ = facteur de forme aérodynamique

A partir de cette observation, Edward et al (1997) ont produit des particules poreuses de très faible densité. Bien que le diamètre géométrique de ces particules soit plus grand (> 7µm), le diamètre aérodynamique est suffisamment faible pour que les particules arrivent aux poumons ²⁰²⁻²⁰⁴.

5.2.5 Caractérisation des propriétés particulières et Étude de l'interaction inter-particulaire par la technique de microscopie à force atomique (AFM) :

À l'origine, la microscopie à force atomique est une méthode d'analyse de surface basée sur l'interaction aux forces atomiques d'une sonde sphérique avec une surface rugueuse. Elle permet d'obtenir des analyses 3D des rugosités avec une excellente résolution verticale. Les mesures dépendent beaucoup de la qualité de la pointe utilisée ²⁰⁵. Les forces mesurées sont de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-9} N. Le principe de mesure est présenté dans la figure suivante ²⁰⁶:

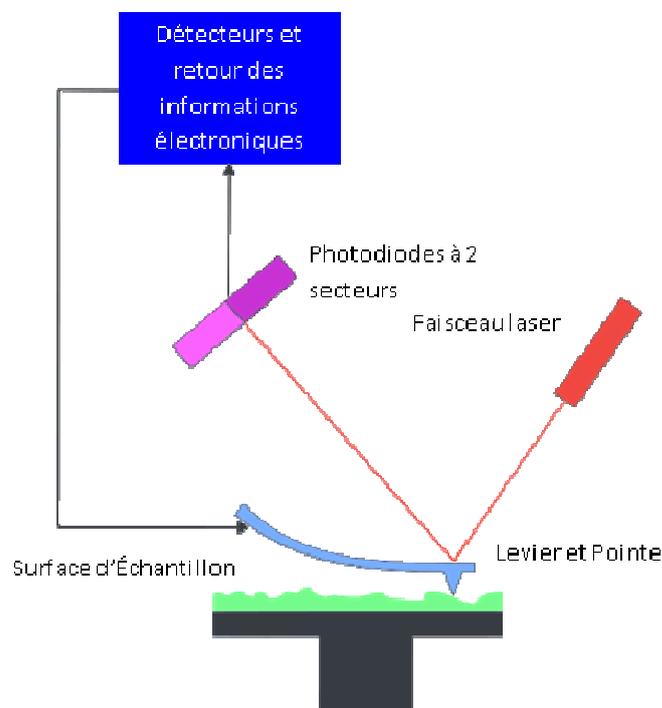


Figure A.20. Principe de fonctionnement de l'AFM

Cette technique est très utilisée pour caractériser la surface de matériaux et pour étudier l'interaction inter-particulaire à courte distance. Contrairement aux techniques de MEB (Microscopie Électronique à Balayage) et STM (Microscopie à effet tunnel) qui ont besoin de vide, l'AFM permet d'étudier l'influence des conditions environnementales sur l'interaction entre les particules.

Louey et al a utilisé une pointe sphérique en silicium en « mode spectroscopique » pour déterminer la force d'adhésion de différents grades de lactose. Les forces d'adhésion mesurées ne sont pas distribuées de façon homogène à la surface des particules. La

différence d'intensité de force pourrait être due à la présence de défauts cristallins, de différents groupements chimiques exposés (alpha et bêta lactose), de particules fines et de rugosité de surface. La distribution de la force d'adhésion de surface suit une loi logarithmique. Cela permet de caractériser les différents grades de lactose à partir des paramètres de l'équation de distribution ¹²³. En utilisant la même technique mais en mode « tapping », Young et al ont déterminé la rugosité de surface de particules ondulées de BSA (Bovine Serum Albumin – Albumine de sérum bovin). La fraction de particules fines est trouvée linéairement corrélée avec la racine carrée de la rugosité ¹⁹⁴. La technique d'AFM permet également de quantifier l'énergie de séparation de particules cohésives de principe actif. La performance aérodynamique des formules utilisant le principe actif seul diminue quand l'énergie de séparation des particules augmente. L'effet de l'humidité relative sur cette énergie et sur la dispersion a été étudié ²⁰⁷.

En se basant sur la technique d'AFM, d'autres auteurs ont utilisé des cristaux de principe actif comme pointe de mesure. Cette approche permet d'évaluer l'interaction directe entre une particule de principe actif et la surface du transporteur (alpha lactose monohydrate), dans différentes conditions atmosphériques ^{151,154}. L'énergie de séparation principe actif - transporteur et la force d'adhésion augmentent avec l'humidité relative.

Il y a deux types de forces d'interaction inter-particulaire : la force cohésive concernant l'interaction entre les particules de même nature (principe actif – principe actif A-A ou transporteur – transporteur B-B) et la force adhésive mesurant l'interaction entre deux particules de nature différente (principe actif – transporteur A-B). L'interprétation de mesures par AFM avec la pointe de principe actif a conduit au développement du concept « Balance Cohésive – Adhésive » d'un système binaire. Les résultats mesurés sur différents cristaux d'un matériau sont représentés sur un graphique dont l'abscisse désigne la force adhésive (A-B) et l'ordonnée désigne la force cohésive (A-A). Le graphique ainsi obtenu permet de visualiser la balance cohésive – adhésive d'un système principe actif – transporteur (Figure A.21) ²⁰⁶. Dans un mélange interactif pour inhalation, des agglomérats de principe actif se forment quand la force cohésive (A-A) dépasse la force adhésive (A-B). Dans le cas contraire où la force adhésive est prédominante, les particules de principe actif adhèrent sur la surface du transporteur

208. L'observation microscopique (MEB) et l'analyse de la performance aérodynamique ont confirmé ces arguments.

La balance cohésive – adhésive est un outil potentiel permettant de concevoir un système principe actif – transporteur optimal pour l'inhalation à partir de différents types de transporteurs ²⁰⁹. De plus, le choix d'un sel optimal pour la voie inhalée est également facilité dès l'étape de développement chimique ¹⁰⁰. Cette approche a été également utilisée pour différencier le profil cohésif – adhésif de différents lots d'un principe actif. La variation de balance cohésive – adhésive d'un lot à l'autre a une répercussion importante sur la qualité et la performance aérodynamique de son mélange avec un transporteur ²¹⁰. À partir d'un profil cohésif-adhésif, des modifications de surface sont envisageables. La balance cohésive - adhésive permet de quantifier les effets des modifications sur les interactions particulières ^{201,211}. Enfin, le choix d'une méthode de mélange et d'un mélangeur est optimisé à partir des propriétés cohésives – adhésives du système binaire ²¹².

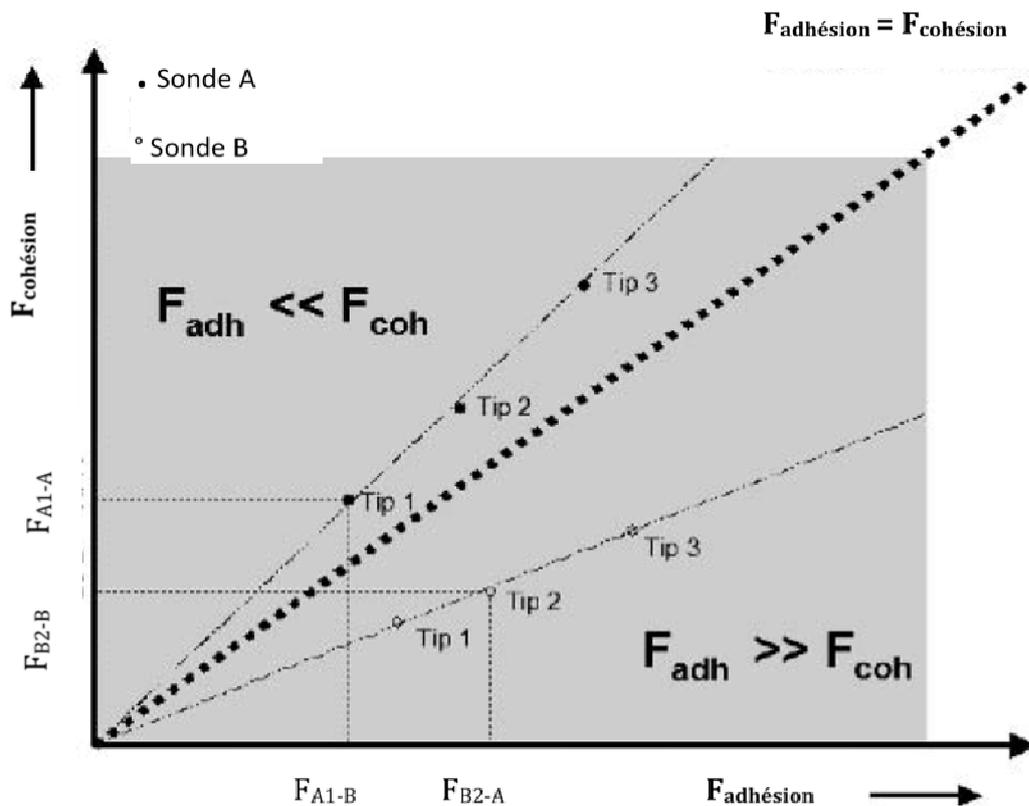


Figure A.21. Balance cohésive – adhésive d'un système binaire (selon Price, R. et al, 2004, avec la permission de Springer®).

À côté de ces avantages incontournables, l'interprétation et la corrélation des résultats d'AFM avec les propriétés de l'ensemble des particules sont sujets à plusieurs critiques, à savoir :

- Les mesures sont très fastidieuses : nombre important de mesures pour avoir une signification statistique, la manipulation microscopique...
- Les résultats non représentatifs. En effet, les mesures ne sont réalisées que sur une surface limitée de particule. De plus, dans le cas où les cristaux de principe actif seraient utilisés, les variations d'habitus et la surface choisie pour la mesure influencent la qualité de mesure qui dépend considérablement de la qualité de la pointe ^{143 151}.
- La zéro séparation lors de la mesure est souvent observée en présence d'une couche d'absorbant à la surface ²¹³.
- La modélisation des propriétés d'un ensemble de particules à partir des mesures sur des particules séparées est actuellement impossible, à cause de la complexité du milieu granulaire. Dans les modèles actuels, il manque des caractéristiques importantes comme la forme des particules, la distribution granulométrique, la plasticité des particules, l'interaction dynamique...^{214 215}.

5.3 Propriétés de l'ensemble des particules

Les poudres sont un milieu granulaire et peuvent être définies comme étant un ensemble de petits éléments représentant un milieu solide dispersé dans une phase fluide continue ⁷⁶. À l'état sec, c'est une phase gazeuse qui remplit l'espace interstitiel entre les particules. Contrairement aux liquides et aux solides dont les propriétés et le comportement sont bien maîtrisés par des expressions mathématiques, les milieux granulaires comme les poudres sont un état hybride de la matière dont la description est encore phénoménologique. Car une poudre ²¹⁶:

- ne peut pas être étudiée comme un solide, même si elle peut être déformée ;
- ne peut pas être étudiée comme un liquide, même si elle peut s'écouler ;
- ne peut pas être étudiée comme un gaz, même si elle peut être compressée.

Généralement, les propriétés à l'échelle macroscopique du milieu granulaire sont du type collectif. Leur résultat est exprimé par une moyenne calculée par particule ou par

unité de masse, surface ou volume du milieu ²¹⁷. Dans un milieu granulaire, il existe des interactions inter-particulaires et des interactions entre les particules et la phase continue. Elles compliquent la modélisation et la compréhension théorique du problème. La distribution granulométrique est la propriété collective la plus importante de la poudre. Elle détermine les forces d'interaction prédominantes. Les influences de taille et de distribution granulométrique sur la performance aérodynamique des poudres pour inhalation ont été discutées dans le chapitre précédent. Dans cette partie, les autres propriétés d'un assemblage de particules sont traitées.

5.3.1 Surface spécifique

L'importance de la surface spécifique (ou aire massique) est accentuée par le fait que le phénomène d'interaction et de transfert a lieu principalement à la surface. Elle est mesurée par plusieurs techniques, à savoir :

- la méthode par adsorption de gaz (méthode de calcul de B.E.T.)
- la perméabilimétrie
- la porosimétrie au mercure

L'interprétation des résultats et les limites de chaque méthode ont été discutées dans les documents de référence ²¹⁸⁻²²⁰.

Bien que la surface spécifique soit souvent contrôlée lors de la fabrication des matériaux, l'étude de son influence sur la performance aérodynamique de poudres pour inhalation est très limitée. La raison possible serait que la surface réelle exposée au contact avec la phase gazeuse est différente de l'aire massique, à cause de l'agglomération des particules fines. Une corrélation linéaire entre la surface spécifique du transporteur avec la fraction de particules fines a été reportée. L'implication de l'énergie de surface permet d'améliorer cette corrélation ²²¹.

5.3.2 Énergie de surface

L'énergie de surface est un paramètre permettant de décrire la thermodynamique de surface de la poudre. Elle est composée de deux composantes principales de caractéristique de surface : polaire et dispersive. Les interactions dispersives sont les forces de London. Il s'agit de l'interaction entre molécule apolaire – molécule apolaire.

Les forces polaires représentent toutes les autres forces non-dispersives ²⁰⁵. En fonction de la composition chimique, de l'état de surface... des particules mises en contact, la force prédominante dans l'interaction est dispersive ou polaire.

Différentes techniques sont disponibles pour déterminer l'énergie de surface, à savoir :

- la mesure des angles de contact avec des liquides judicieusement choisis qui servent comme des sondes polaires et apolaires.
- l'étude de sorption dynamique du solide avec les sondes (souvent les solvants organiques) ayant une énergie d'interaction connue.
- la chromatographie gazeuse en phase inverse

La technique de chromatographie gazeuse inverse est récemment utilisée pour caractériser les modifications de surface ^{222,223} et pour examiner l'interaction inter-particulaire dans les poudres pour inhalation ²²¹. Le principe est d'étudier l'élution de différentes sondes dans un courant gazeux inerte, toujours dans le cadre d'une adsorption réversible ²²⁴.

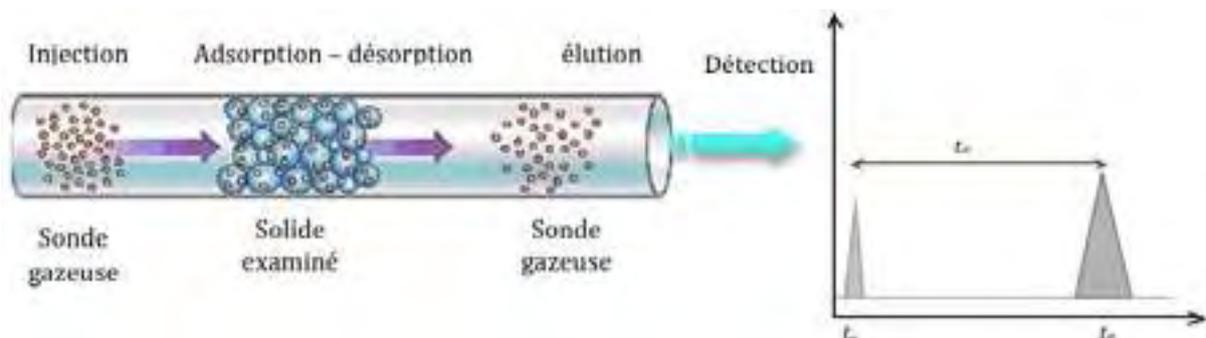


Figure A.22. Principe de chromatographie gazeuse inverse

Il existe deux configurations : la technique à dilution infinie et à dilution finie.

La technique dite « à dilution infinie » (ID-IGC) ^{221,225} :

On injecte une très faible quantité de sondes dans la colonne de solide examiné. À ces conditions, seuls les sites les plus réactifs interagissent avec les sondes. La position du pic d'élution (t_N) est exploitée pour le calcul de la composante dispersive de l'énergie de surface (γ_{SD}), dans le cas où les sondes seraient apolaires (série homologue d'alcane). L'interactivité de la surface d'une série de poudres peut être évaluée et comparée grâce à la valeur de γ_{SD} . L'introduction de sondes à caractère acide ou basique permet

d'accéder à l'interaction non-dispersive due aux caractéristiques de l'acido-basicité de la surface étudiée.

La technique dite « à dilution finie » (FD-IGC) :

Dans cette technique, on injecte une quantité plus importante de sonde, capable d'interagir avec tous les sites. Le pic de désorption est lié à la distribution des temps de résidence des sondes, elle-même liée à une fonction de distribution en énergie des sites. On parle de l'hétérogénéité d'énergie de surface ²²⁶. Un nouveau modèle de distribution d'énergie de surface a été proposé, basé sur des hypothèses thermodynamiques plus réalistes. Ce modèle permet de décrire l'hétérogénéité d'énergie à la surface qui est en accord avec les résultats expérimentaux des mélanges de lactose avec différentes concentrations en particules fines ²²⁷.

Par l'approche de l'interaction thermodynamique, les paramètres d'interaction inter-particulaire ont été calculés à partir de l'énergie de surface mesurée par la technique d'IGC. La fraction de particules fines de différentes formes de xinafoate de salmétérol est corrélée avec la différence entre l'interaction adhésive et cohésive. Une augmentation de l'interaction adhésive permet d'améliorer la performance aérodynamique. Cette observation contre-intuitive est expliquée par le fait que la séparation des particules de principe actif est améliorée par l'augmentation de l'interaction adhésive ²²⁵.

5.3.3 Propriétés liées à l'empilement des particules

A l'état statique, les particules solides forment un tas grâce aux interactions inter-particulaires. Si ces interactions ne sont plus suffisantes pour maintenir les particules du tas à l'équilibre, celui-ci s'effondre et forme un tas conique plus ou moins pointu. Grâce au réseau de contact des particules, les contraintes de cisaillement peuvent être transférées d'une particule à l'autre. L'empilement des particules est fonction de la distribution granulométrique et des interactions possibles entre les particules. Il forme un réseau de pores interstitiels entre les particules. Ce sont les caractéristiques à l'échelle macroscopique d'une poudre.

5.3.3.1 Angle de repos

La propriété la plus remarquable d'une poudre est l'angle caractéristique du tas qu'il forme, appelé l'angle de repos, que l'on observe en versant la poudre à partir d'un entonnoir. L'angle de repos est un paramètre souvent utilisé pour évaluer l'écoulement d'une poudre. Bien que ce phénomène s'avère simple, notre compréhension sur ce mécanisme physique est encore très limitée ²²⁸.

Les modèles physiques sur l'influence d'interactions inter-particulaires et de rugosité de surface sur l'angle de repos sont étudiés. Une croissance d'interactions et de rugosité conduit à l'augmentation de l'angle de repos de la poudre et ainsi à une diminution de son écoulement ^{229,230}. À son tour, l'écoulement d'un transporteur influence la qualité du mélange de poudre. L'utilisation des résultats de mesures par l'IGC et par l'AFM permet de calculer les valeurs théoriques de l'angle de repos. Ces dernières sont montrées bien corrélées avec les mesures expérimentales ²³¹.

Dans une étude sur l'angle de repos dynamique, des auteurs ont montré une bonne corrélation entre le descripteur de l'angle de repos dynamique et la dispersion de la poudre ²³². Cependant, l'étude de l'influence de l'angle de repos sur les propriétés des poudres pour inhalation est très limitée bien qu'il soit un excellent indicateur de l'interaction inter-particulaire.

5.3.3.2 Porosité de poudre

Pour un empilement de particules, la porosité interstitielle ε est une caractéristique importante (équation). Elle est définie comme le rapport entre le volume du vide (pores) entre les particules et le volume total occupé par les particules dans un lit de poudre.

$$\varepsilon = \frac{V_{pore}}{V_{pore} + V_{solide}} = \frac{V_{pore}}{V_{poudre}}$$

Il faut noter que le vide d'un milieu granulaire est composé de pores inter-granulaires et intra-granulaires.

La structure de l'empilement des particules dépend de la distribution granulométrique et des interactions entre les particules. Des modèles mathématiques sont disponibles

pour décrire la relation entre les propriétés particulières et l'interaction avec la structure d'empilement de la poudre ²³³.

À côté de la méthode de tassement, la structure de la porosité de poudre peut être mieux accédée par la méthode de perméabilité ^{234,235} et l'intrusion de liquide non mouillant (i.e, la porosimétrie au mercure) ^{236,237}.

Depuis longtemps, la densité tassée et la densité vrac sont largement utilisées pour évaluer l'écoulement d'une poudre ²³⁸. Une structure dense de poudre permet de réduire la ségrégation du mélange ⁶⁰. Cependant, l'influence de la structure de la poudre sur la dynamique du mélange et la fluidisation est très peu connue. Une observation expérimentale a été reportée. Lors du mélange dans un mélangeur Turbula, les poudres plus cohésives se tassent plus que les poudres non cohésives sous l'action des forces centrifuges. Cette réduction de volume effectif peut avoir des conséquences sur la qualité du mélange, le temps nécessaire pour avoir une homogénéité acceptable augmente ¹³⁴. Récemment, la perméabilité de mélanges de lactose à différentes concentrations de particules fines a été étudiée. Une diminution de perméabilité pour des concentrations croissantes de fines est mise en relation avec une augmentation de la fraction respirable des mélanges ⁸⁴.

5.3.4 Propriétés dynamiques

5.3.4.1 Charge électrostatique

La charge électrostatique des poudres pour inhalation se produit généralement par tribo-électrification, quand les collisions entre les particules et le contact avec différentes surfaces conduisent au transfert d'électrons entre eux. La très faible conductivité de ces poudres empêche la décharge. Tous les mouvements de particules (broyage, mélange, remplissage, transport, nébulisation...) conduisent au chargement électrostatique. L'accumulation de cette charge électrique les rend plus adhésives et cohésives, ce qui compromet donc leur dispersion ¹⁶⁰. La force électrostatique reste très difficile à contrôler. Les principaux facteurs influençant la charge et la décharge électrostatique sont :

- **les propriétés physicochimiques des particules** : la nature chimique et cristalline du matériau déterminent la charge électrostatique et le temps de décharge lors de frottement sur une surface ^{161,239,240}. Les particules de tailles différentes se chargent

différemment ²⁴¹. La charge du mélange de lactose diminue en fonction de la concentration en fines particules de lactose. Cela montre l'importance de la distribution granulométrique et le rôle possible des fines particules de lactose dans le mélange ²⁴².

- **la construction et le mécanisme de dés-agglomération** d'inhalateur ²⁴⁰

- **les caractéristiques de la surface en contact** ^{239,243}, d'où la nécessité d'optimiser le matériau de l'inhalateur.

- **les conditions atmosphériques.** En effet, l'augmentation de l'humidité est favorable à la réduction de la charge électrostatique ^{157,244}. Une augmentation de 0 à 60% de l'humidité relative conduit à l'amélioration de la fraction de particules fines du sulfate de salbutamol. Cependant, au moment où la force capillaire domine, dans ce cas l'humidité relative est supérieure à 60%, l'augmentation subséquente de l'humidité relative réduit la fraction de particules fines ¹⁰³.

Le phénomène électrostatique est inévitable, non reproductible et chaotique. Dans certains cas, l'aérosolisation de la poudre n'est pas influencée par l'électrostaticité ²⁴⁵. En général, il est possible de la contrôler et de minimiser ses influences sur la qualité de produit ²⁴⁶.

5.3.4.2 Cohésion de la poudre – Paramètres d'écoulement

En considérant la poudre comme un milieu continu, l'évaluation de la cohésion de la poudre par les rhéomètres est possible. La résistance au cisaillement est une technique largement utilisée pour déterminer la cohésion de la poudre et pour concevoir avec succès les trémies dans les industries des poudres ²³⁸. Récemment, le développement de nouveaux rhéomètres a permis de mesurer l'énergie d'écoulement d'une poudre avec une bonne reproductibilité. Le principe de ces rhéomètres est de mesurer la force et/ou le couple de torsion s'exerçant sur un mobile rotatif tournant dans le lit de poudre. La cohésion de la poudre est ainsi déterminée, à partir de différents paramètres dérivés : l'indice de cohésion ou l'énergie d'écoulement. En faisant passer le fluide d'air à travers le lit de poudre, il est possible de mesurer l'énergie de fluidisation de la poudre. Ces résultats ouvrent la possibilité d'approfondir le mécanisme d'aérosolisation des poudres pour inhalation ^{84,247}.

VI. Fabrication des poudres pour inhalation

Les substances médicamenteuses contenues dans les inhalateurs à poudre sèche doivent avoir une granulométrie fine pour pénétrer au niveau broncho-alvéolaire. Leurs tailles sont généralement comprises entre 1 et 5 micromètres. À cette granulométrie, les particules solides sont très cohésives et s'écoulent difficilement. Différentes approches sont utilisées pour résoudre ce problème afin de réaliser la fabrication industrielle de poudres pour inhalation tout en assurant la performance de la formulation, l'homogénéité et la reproductibilité de qualité des produits. Il y a deux stratégies traditionnelles de fabrication de poudres pour inhalation : le mélange avec un transporteur et l'agglomération (ou sphéronisation) des particules de principe actif seules. Le développement récent de l'ingénierie des particules permet de concevoir et fabriquer des particules de principe actif qui ont des propriétés technologiques et biopharmaceutiques supérieures.

Dans cette partie, les méthodes traditionnelles de fabrication sont d'abord décrites au point de vue de l'échelle industrielle. L'ingénierie des particules respirables est ensuite abordée en citant les techniques disponibles. Enfin, les nouvelles voies de développement dans ce domaine sont discutées.

Les étapes de fabrication sont les suivantes :

- Préparation des matières inhalables
- Pesée
- Mélange ou Agglomération (ou sphéronisation)
- Conditionnement dans les systèmes de délivrance : dans les gélules, dans les alvéoles ou dans le réservoir de l'inhalateur.

Malgré la simplicité apparente, la production de poudre pour inhalation est très complexe et demande un contrôle étroit depuis la qualité de matière première jusqu'aux opérations. Étant donné que la qualité du produit dépend fortement de la qualité des matières premières, leur préparation est particulièrement discutée dans cette partie.

6.1. Préparation des matières premières inhalables

6.1.1 Fabrication des particules respirables de principe actif

Plusieurs techniques sont disponibles pour produire des particules de taille suffisamment petite pour pénétrer dans les poumons. Deux approches principales peuvent être citées :

- Les méthodes « top-down » : la fragmentation mécanique de grandes particules en plus petites tailles, c'est le broyage fin ou la micronisation.

- Les méthodes « bottom-up » : le séchage par nébulisation, la précipitation contrôlée, la sono-cristallisation, les procédés du fluide supercritique...^{248,129,182,249,250}.

6.1.1.1 Les méthodes « top-down » - Broyage fin - Micronisation

Le broyage conduit par la fragmentation mécanique à une réduction des dimensions individuelles de morceaux solides. La division par fragmentation mécanique d'un matériau se produit par propagation spontanée de microfissures internes ou superficielles existantes, et se traduit par la rupture des liaisons interatomiques. Le comportement à la rupture du matériau dépend donc de la présence initiale de ces microfissures, mais aussi des conditions de leur amorçage et surtout de leur propagation. Les quatre principaux modes de sollicitations mécaniques qui peuvent être à l'origine de la fragmentation des particules solides sont :

- par compression ou compression – cisaillement
- par cisaillement
- par choc contre une paroi
- par choc mutuel entre deux particules.

Ces mécanismes peuvent être mis en œuvre séparément ou simultanément dans les appareils de broyage. Leur sélection implique ²⁵¹⁻²⁵³ :

- la connaissance des propriétés des matériaux qui influent sur les opérations, donc la dureté, la ténacité, l'abrasivité, la broyabilité et la teneur en eau.
 - **La dureté** est une propriété de surface qui est souvent confondue avec la ténacité. Un matériau peut être dur mais cassant, son broyage fragmentation ne posera pas de difficulté. Pour estimer la dureté des corps, une classification arbitraire des minéralogistes, dit de MOHS, est souvent utilisée. Cette classification est fondée sur la dureté de certains minéraux classés de 1 (graphite) à 10 (diamant). La plupart des corps utilisés en pharmacie sont situés entre le numéro 1 et le numéro 4 de l'échelle de MOHS.
 - **La température de ramollissement** des substances, le plus souvent de nature organique, utilisées en pharmacie, joue un rôle important. La fragmentation est, en effet, génératrice de chaleur et engendre des difficultés notamment du collage. Certains corps collent naturellement à la température ordinaire, mais le plus souvent à la suite d'une augmentation de la température. Le refroidissement de l'appareil permet de réduire les difficultés dues à l'élévation de température.
 - **La ténacité** pose souvent plus de problèmes que la dureté. Les substances fibreuses et à humidité élevée sont difficiles à fragmenter. Le refroidissement du matériau facilite l'opération.

- **L'abrasivité** est une propriété des corps durs, numéro 6 à 10 de l'échelle de MOHS, surtout des minéraux. Elle provoque l'usure des pièces de machines et entraîne, par là-même, une contamination des solides traités
 - **La broyabilité** est définie comme la résistance d'une substance à la fragmentation qui a une influence majeure sur la quantité d'énergie consommée. Un test d'impact sur cible en jet d'air permet d'apprécier la broyabilité de matériaux pulvérulents dans une large gamme de condition de l'attrition.
 - **La teneur en eau** du produit influence souvent directement certaines propriétés mécaniques. Généralement, pour conduire une fragmentation à sec convenable, il faut une humidité inférieure à 5%, avec la plupart des appareils.
- Le comportement de cohésion/adhésion qui est du soit à l'humidité soit à la taille des particules.
 - La granulométrie des particules à broyer et la granulométrie souhaitée du produit
 - L'énergie absorbée par le broyage
 - La sensibilité chimique à la chaleur
 - La quantité à traiter
 - La facilité de nettoyage qui est spécialement importante dans le domaine pharmaceutique
 - Les autres propriétés comme la toxicité, l'inflammabilité...

Dans le cas des particules respirables du principe actif, les techniques industrielles les plus utilisées sont les broyeurs à jet d'air. La principale raison de ce choix est la moindre production de chaleur et la réduction importante des contaminants. La fragmentation résulte principalement de l'attrition entre les grains à broyer. L'énergie mettant les particules en mouvement est fournie par un jet de fluide comprimé (air ou vapeur). Un classificateur est normalement intégré avec les broyeurs à jets d'air. La mesure en ligne en temps réel et en continu de la distribution granulométrique d'une poudre permet d'optimiser un procédé de fabrication. ²⁵⁴

6.1.1.1.1 Types d'appareil de broyage à jet d'air.

Il y a trois grands types d'appareil de broyage à jet d'air

Dans le cas **des microniseurs à jet d'air en spirale**, le matériau à traiter est soufflé dans une enceinte de broyage circulaire, plate et horizontale à travers un venturi placé en périphérie. Le fluide comprimé pénètre dans la chambre à travers des injecteurs tangentiellement à cette chambre avec des vitesses très importantes. Les grains sont

accélérés par les faisceaux gazeux tournants. La fragmentation résulte des chocs successifs avec attribution entre les particules qui sont classées par le fluide. Les grains surdimensionnés restent dans la zone de broyage tandis que les autres et le fluide décompressé sortent par le centre. L'appareil peut fonctionner en circuit ouvert ou fermé.^{251,255}

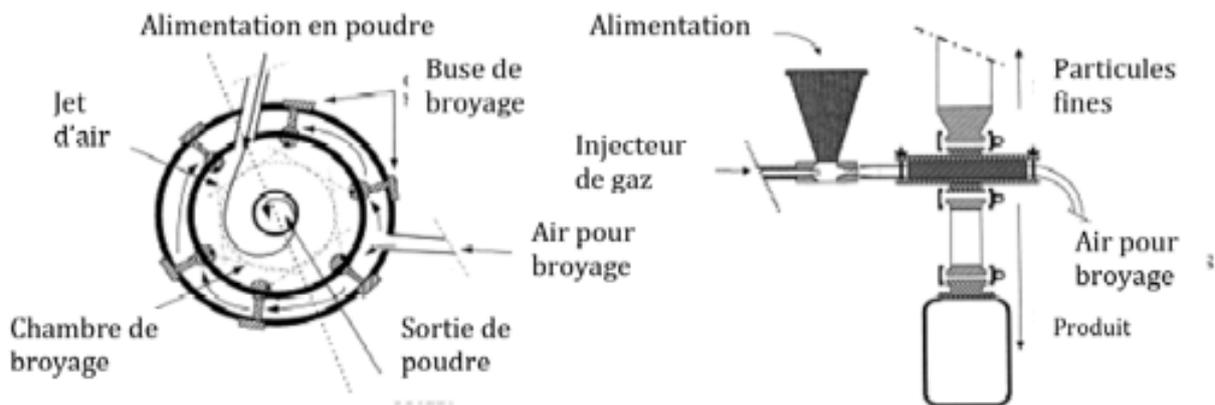


Figure A.23: Schéma de principe d'un microniseur à jet d'air en spirale (selon Midoux, N. et al, Copyright (1999), avec la permission d'Elsevier)

L'effet de vortex spiral au centre du broyeur définit la fragmentation et la transition de la zone de broyage à la sortie du broyeur, donc le rendement de l'appareil et la granulométrie du produit final. Une énergie spécifique de broyage (rapport de l'énergie cinétique de fluide de broyage sur la vitesse d'alimentation) importante peut conduire à la granulométrie plus petite mais également à l'agglomération du produit final et au faible rendement énergétique. Au contraire, le broyage incomplet résulte d'une énergie spécifique de broyage insuffisant. Les variations de pression doivent être étroitement contrôlées au cours du broyage. Une méthode de transposition d'échelle est actuellement disponible pour ce type de broyeur^{255,256}. Le broyeur à jets d'air en spirale est un choix dans domaine pharmaceutique grâce à sa simplicité de manipulation et le nettoyage facile.²⁵⁷

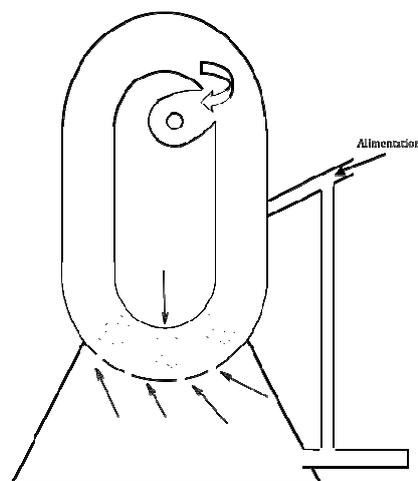


Figure A.24. Schéma d'un microniseur de type Jet O Mizer (d'après A. Lehir, 2001)

Dans le cas du broyeur de type *Jet o Mizer*, la matière à broyer est injectée à la base de l'appareil par un gicleur dans une chambre de broyage de section trapézoïdale. Des injecteurs tangentiels supplémentaires créent dans la partie inférieure du circuit un régime tourbillonnaire intense au sein duquel les grains se percutent.

Une cheminée ascendante, de profil de section soigneusement calculée assure l'évacuation du fluide chargé de poussières en même temps que l'interception des grains insuffisamment réduits; ceux-ci freinés le long de parois, retombent dans la chambre de broyage tandis que les poussières fines, captées par le séparateur hélicoïdal sont évacuées avec le fluide qui les transporte par l'orifice. Le fluide, ensuite, revient à la chambre de broyage.

La pression de l'alimentation et la pression de broyage doivent être adéquatement déterminées pour assurer le rendement et la granulométrie du produit ²⁵⁸.

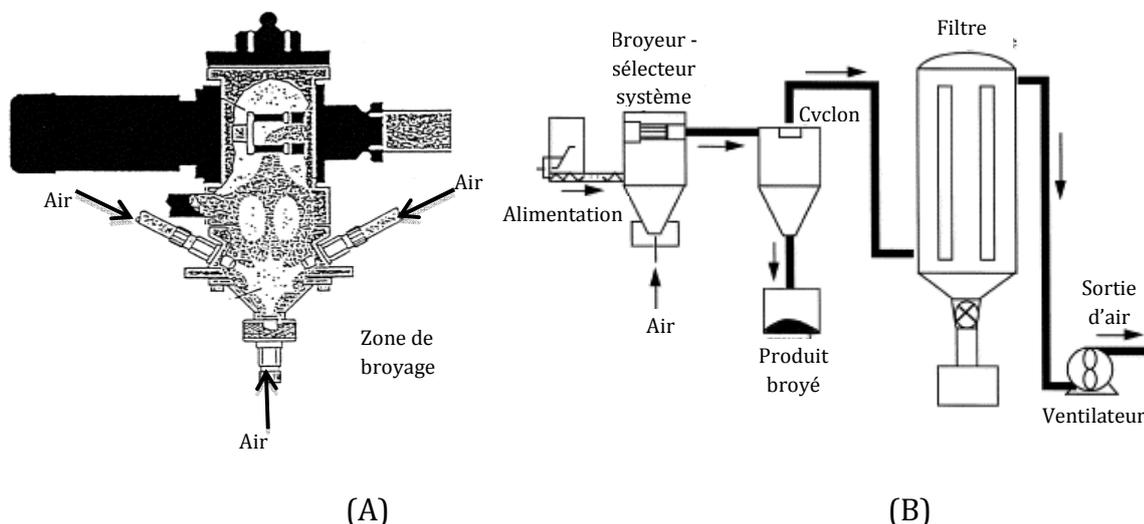


Figure A.25: Schéma de principe (A) et d'installation (B) d'un microniseur à jets d'air opposés à lit fluidisé (selon Henri Berthiaux and John Dodds, Copyright (1999), avec la permission d'Elsevier)

Dans le cas de broyeurs à jets d'air opposés à lit fluidisé (ALPINE AFG série), la chambre de broyage est de forme cylindro-conique en acier inox. Trois buses d'injection d'air sont disposées de telle façon que les jets qui en résultent soient concourants. Les particules, qui sont introduites en continu grâce à une vise doseuse, sont projetées les unes contre les autres et fragmentées par ces impacts mutuels. Il se forme alors un courant ascendant en forme de fontaine transportant celles-ci vers le classificateur à rotor. Ce dernier, intégré dans l'enceinte de broyage est une turbine cylindrique de type « cage d'écureuil » dont la gamme de vitesse de rotation se situe entre 5000 à 16000 tr/min. À pression d'air et débit d'alimentation constants, cette valeur de vitesse de rotation fixe la distribution granulométrique du produit sortant du broyeur. Les particules grossières,

refusées par la roue du classificateur sont recyclées de manière interne dans la zone de broyage en descendant le long de la paroi.

Le broyage de type jet d'air opposé avec lit fluidisé permet de conserver la structure des produits laminaires tels que talc ou graphite et la structure en aiguilles de la wollastonite.²⁵⁹

La consommation énergétique de trois types de broyeurs est légèrement différente. Pour un diamètre d'arrêt absolu d_{97} , un broyeur à jets d'air opposés avec lit fluidisé consomme moins l'énergie qu'un broyeur à jets d'air en spirale²⁵⁹. Pour une énergie spécifique de broyage similaire, un broyeur à jets d'air en spirale produit une poudre plus fine et avec une distribution granulométrique plus étroite qu'un broyeur de type *Jet O Mizer*.²⁵⁷²⁶⁰ Le nettoyage du broyeur à jets d'air opposés avec lit fluidisé est le plus difficile à cause de sa complexité de construction²⁶⁰.

Les broyeurs à jets d'air ont plusieurs avantages :

- La décompression du fluide amène un refroidissement qui compense la chaleur de fragmentation pour les substances thermosensibles.
- La réduction de taille se faisant par attrition inter particulaire, les phénomènes d'usure de l'appareil sont réduits, ainsi que les contaminations.
- Il est possible d'employer un gaz inerte pour la fragmentation des substances oxydables ou explosives.
- Le classificateur est incorporé à l'appareil et permet un classement serré de la granulométrie du produit fini.

Par contre, des inconvénients ont été identifiés :

- Ces appareils sont couteux et consomment de grandes quantités de fluides et donc l'énergie.

Il existe également d'autres machines pour le broyage fin comme les broyeurs à boulet classiques et le broyeur à boulet vibrant. Le premier type de broyeur est bien utile mais le processus de broyage est long, bruyant et la contamination possible due à l'usure. Le dernier est plus avantageux que les broyeurs à boulets classiques, tout au moins pour les broyeurs de petites à moyennes tailles, par suite d'un broyage dix fois plus rapide et de l'obtention d'une distribution granulométrique plus serrée, d'une consommation d'énergie moindre, d'un encombrement et d'un poids plus réduit.

La micronisation intervient également sur la production des agents ternaires (la leucine broyée) et de fine fraction de transporteur, comme le lactose fin.

6.1.1.1.2 Influences du procédé de broyage sur les caractéristiques des particules fines obtenues

L'énergie importante mise en jeu lors du broyage est absorbée par le solide, génère la division des particules et ensuite engendre différentes modifications sur la morphologie, l'état de surface, l'état cristallin des particules et l'électrostaticité du produit ²⁶¹. Contrairement à la surface naturellement développée par la cristallisation, la surface créée par l'activation mécanique possède des zones de dislocation moléculaire définies comme des zones amorphes. Il y a une corrélation entre l'énergie de micronisation et la teneur en amorphe ¹²⁵. Au point de vue thermodynamique, les zones amorphes sont métastables et sont à un état énergétique plus important. Elles peuvent donc conduire à la recristallisation au cours du stockage ¹¹¹.

De nombreuses études rapportent que le broyage peut induire des transformations de phase cristal - cristal ou des amorphisations. À assez forte intensité de broyage et en dessous de leur température de transition vitreuse, il est possible d'amorphiser le tréhalose et le lactose. Par contre, pour des températures de broyage plus élevées (en pratique supérieures à la température de transition vitreuse de l'état amorphe du composé), le broyage du cristal peut entraîner une transformation polymorphique. Les formes cristallines δ et β du mannitol évoluent vers la forme α avec une stabilité stationnaire. Pour un même composé, diminuer la température de broyage ou augmenter l'intensité de broyage peut conduire à changer la nature de l'état physique final généré par broyage : transformation polymorphique cristalline (haute température ou basse intensité de broyage) ou amorphisation (basse température ou haute intensité de broyage).²⁶²

Dans une étude sur la micronisation du salbutamol base, les auteurs ont montré qu'après le broyage, les particules deviennent moins allongées avec les bords plus arrondis et le degré de sphéricité plus élevé ²⁶³. En étudiant la micronisation du sulfate de salbutamol par un broyeur à jet d'air, un effet similaire sur la morphologie des particules est enregistré. L'effet de lissage des bords pourrait être attribué à la recristallisation ¹²⁵. En plus, les particules submicroniques sont liées aux plus grandes particules et des ponts particulaires sont formés au cours du stockage, spécialement à 40% d'humidité relative et à 25°C, observés par la microscopie électronique à balayage. Une petite quantité de zones amorphes dues à l'activation mécanique est détectée grâce aux différentes techniques : DSC, microcalorimétrie en solution et la suivie de la sorption dynamique de la vapeur d'eau (DVS). La recristallisation de zone amorphe est activée par le stockage à l'humidité relative importante ¹¹¹. L'étude du comportement rhéologique des lots de sulfate de salbutamol montre qu'après avoir été micronisée, la poudre est plus cohésive. L'énergie de surface, mesurée par la chromatographie gazeuse inverse, est plus importante qu'avant broyage ²²³. La micronisation du propionate de fluticasone par un broyeur à jet d'air de type *Jet O Mizer* conduit à une distribution granulométrique large et l'apparition de zones amorphes. La recristallisation des zones

amorphes a été induite par l'humidité relative supérieure à 50% ²⁶⁴. La micronisation de budésonide par un broyeur à jet d'air génère environ 5% d'amorphe. La surface spécifique du budésonide micronisé augmente avec la formation des nouveaux micropores au fil du temps de stockage, probablement due à la relaxation du stress résiduel de la micronisation ²⁶⁵. Tous les changements des caractéristiques de surface altèrent ainsi la performance *in vitro* and *in vivo* de leurs formulations.

Le broyage par fragmentation mécanique est un procédé difficilement contrôlable. ²⁶⁶ La variation d'un lot à un autre est fréquente. Il est possible de minimiser la variation d'une part par le contrôle étroit du procédé de broyage : les conditions opératoires, la taille du lot et vitesse d'alimentation, d'autre part par l'addition d'opérations secondaires au procédé de broyage comme le stockage dans des conditions climatiques définies. Avec la grande énergie consommée, la micronisation peut conduire à la décomposition de certaines substances fragiles, surtout les produits issus de la biotechnologie. La difficulté de contrôle de la qualité du produit et la dégradation possible due au procédé sont des contraintes majeures du broyage fin. Elles incitent ainsi les industriels à s'orienter vers les méthodes alternatives de production des fines particules : le séchage par nébulisation, la cristallisation contrôlée, les procédés des fluides supercritiques...⁴⁶

6.1.1.2 Les méthodes « bottom-up » :

6.1.1.2.1 Technique de séchage par dispersion ou nébulisation (Spray-drying)

251,252,267,268

Dans cette technique, un composé de départ à sécher est dispersé en fines gouttelettes dans un milieu gazeux généralement chaud et sec qui les transforme instantanément en petits grains de poudre. Le composé de départ peut se présenter sous forme de solution, d'émulsion ou de suspension.

Ce procédé comporte quatre étapes distinctes :

- alimentation et pulvérisation de la matière à traiter (A)
- contact de la substance divisée et de l'air de séchage (B)
- séchage de la phase pulvérisée (C)
- séparation et récupération du produit sec (D).

L'intérêt de la dispersion d'un liquide en brouillard est : la multiplication importante de surface de contact entre la matière et l'air de séchage ainsi que le diamètre petit des particules. Ainsi, le temps de séchage est considérablement réduit.

Trois types de dispositifs de pulvérisation peuvent être utilisés :

- les pulvérisateurs centrifuges : turbines ou disques de pulvérisation qui donnent une répartition granulométrique de gouttelettes étalée.
- les buses à haute pression : sont principalement utilisées pour les liquides à faible viscosité.
- les buses pneumatiques ou à deux fluides : utilisées dans la production de substances émulsionnées ou de liquides à haute viscosité. La taille de gouttelettes pulvérisées est plus faible et plus homogène.

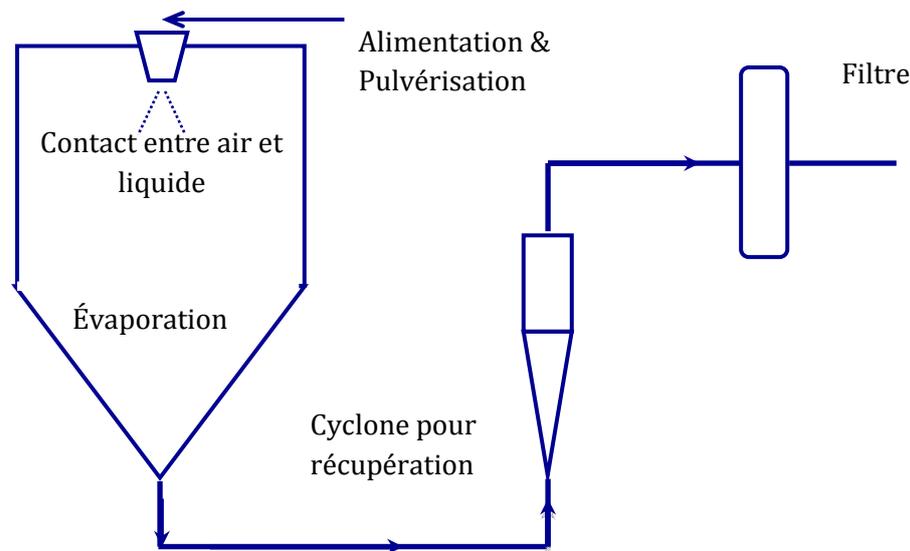


Figure A.26: Schéma d'un séchoir par nébulisation

Tout en respectant les cinétiques de séchage, les températures de surface des produits peuvent rester inférieures aux limites maximales fixées pour éviter les risques de dégradation des propriétés fonctionnelles et biologiques des principes actifs. En général, cette température sera environ 15°C plus basse que la température de sortie d'air. Cependant, pour certains principes actifs très sensibles, un gaz inerte pourrait être utilisé comme fluide de séchage.

En modifiant les conditions opératoires, le procédé de séchage par nébulisation permet de contrôler les caractéristiques des particules :

- La taille des particules peut être contrôlée en modifiant : la viscosité et la concentration de la solution de départ, les paramètres de buse ou de turbine de pulvérisation, la température d'entrée d'air...
- La morphologie des particules est également ajustée en utilisant un solvant approprié¹²⁶.
- Les différentes formes polymorphiques peuvent être produites en utilisant différents solvants et vitesse d'alimentation²⁵⁰.

- La présence de tensioactif et de polymère peut intervenir sur la rugosité, l'hygroscopicité des particules finales ²⁶⁹.
- La densité apparente de la poudre est déterminée par la température d'entrée d'air et surtout par l'injection de gaz neutre tel que l'azote ou le gaz carbonique.
- Le fait d'intervenir notamment sur le choc thermique peut donner naissance à des produits correspondant à des granules creux, sphériques mais vides ou des agglomérats.

Le passage rapide de l'état liquide en état solide facilite la formation d'une partie amorphe sujette à la recristallisation ¹²². Le taux d'amorphe du produit final dépend des conditions opératoires, spécialement le solvant utilisé. C'est donc la stabilité du produit au cours du temps de stockage qui limite l'utilisation de ce procédé dans la fabrication des particules pour inhalation.

De nombreuses études ont envisagés le séchage par nébulisation pour produire des particules inhalables : le cromogliccate disodique ¹²⁸, le sulfate de terbutaline¹²⁷, le propionate de fluticasone ²⁷⁰, le budésonide/le fumarate de formotérol ²⁷¹,...Les particules produites par le séchage par nébulisation sont plus sphériques que les particules micronisées. Due à la plus faible densité et moindre cohésivité, leurs formulations donnent une meilleure performance aérodynamique que le produit initial. Les études de stabilité devraient ensuite être réalisées.

Après une étape de fabrication de particules primaires nanométriques ou micrométriques, le séchage par nébulisation est une méthode de choix de restitution des particules inhalables ²⁷². Le co-séchage par nébulisation du cromoglycate disodique avec la leucine a été étudié pour améliorer la performance aérodynamique de cet antiasthmatique ²⁷³. L'avantage du séchage par nébulisation est d'incorporer différents excipients dans le liquide à pulvériser ce qui permet de modifier les propriétés aérodynamiques, leur stabilité et le profil de libération. Ce procédé permet aussi de concevoir des particules poreuses pour inhalation, de fabriquer des particules inhalables de protéines...

6.1.1.2.2 Cristallisation contrôlée

Le broyage et le séchage par nébulisation permettent de produire des particules de taille suffisamment petite pour inhalation mais ils introduisent dans le produit final une partie amorphe qui n'est pas stable et a des effets néfastes sur l'aérosolisation. Une autre possibilité de production des particules inhalables est la technique de cristallisation contrôlée. Ce procédé consiste à modifier les paramètres conditionnant la cristallisation comme la viscosité, la tension de surface, la concentration,... afin de faciliter la formation de particules de taille souhaitée.

En utilisant la méthode d'anti-solvant avec l'HPMC comme agent stabilisant, des auteurs sont parvenus à produire des particules de propionate de fluticasone de taille respirable. L'HPMC permet d'inhiber la surcroissance des cristaux de propionate de fluticasone. Les particules ainsi cristallisées sont ensuite dispersées dans le milieu avec l'HPMC puis sont récupérées par le séchage par nébulisation. Le propionate de fluticasone cristallisé s'avère moins cohésif, sans présence d'amorphe. Utilisé seul, ce produit est mieux aérosolisé que le propionate de fluticasone micronisé tandis qu'en mélange avec un transporteur, il est plus adhésif aux particules de transporteur. L'apparition de surfaces hydrophilisées de cristal serait la cause possible de ce phénomène ²⁶⁴. Une autre étude sur la cristallisation du sulfate de salbutamol a été réalisée pour fabriquer des particules en forme d'aiguille. En effet, la forme d'aiguille serait plus avantageuse au point de vue aérodynamique. ¹⁸³

6.1.1.2.3 Sono - Cristallisation ^{129,274}

La cristallisation qui est assistée par l'ultrason dans le milieu s'appelle la sono-cristallisation. L'irradiation ultrasonique (de l'ordre 20-25 kHz) apporte une modification périodique et localisée de température et de la pression au sein du milieu. Ces modifications conduisent à l'induction rapide de la nucléation primaire, à la réduction de taille de cristaux et l'inhibition de l'agglomération des particules.

L'étude de la sono-cristallisation du sulfate de salbutamol pour inhalation a été réalisée en investiguant plusieurs paramètres du procédé. Parmi les paramètres critiques, on peut citer :

- l'amplitude de l'ultrason : son augmentation diminue la taille et resserre la distribution de taille des particules.
- à plus faible température de cristallisation, la taille des cristaux est réduite et la distribution de taille devient plus étroite.
- il y a un temps optimal d'irradiation, au-dessous et au-delà duquel, la taille des cristaux est importante et la distribution granulométrique non-contrôlée.

Les cristaux de sulfate de salbutamol ainsi obtenus ont une forme d'aiguille et une taille respirable. La performance aérodynamique de son mélange avec du lactose est améliorée par rapport au mélange avec du sulfate de salbutamol obtenu par le spray-drying et au mélange avec du sulfate de sabutamol micronisé.

6.1.1.2.4 Méthodes utilisant des fluides supercritiques ²⁵⁰

L'état supercritique de la matière est atteint lorsqu'elle est soumise à des conditions où la température est supérieure à sa température critique et la pression est au-dessus de sa pression critique. Dans ces conditions, les propriétés physiques d'un fluide supercritique (densité, viscosité, diffusivité) sont intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz.

Les fluides supercritiques attirent récemment beaucoup d'attention de l'industrie pharmaceutique grâce à leurs multiples avantages :

- ils sont plus écologiques que les solvants organiques traditionnels
- il est possible de contrôler la taille des particules selon les normes préétablies.
- leurs caractéristiques sont facilement modifiées dans une large gamme de valeur en variant les conditions de travail (pression, température).

Le dioxyde de carbone supercritique est principalement utilisé en raison de sa facilité d'obtention (température critique : 31,1 °C, pression critique : 73,8 bars) et de ses propriétés économiques et écologiques intéressantes (non inflammable, non toxique, relativement peu cher et sans coût d'élimination comparativement aux solvants organiques). La faible température critique permet de manipuler avec les principes actifs thermolabiles comme des produits biotechnologiques.

Plusieurs méthodes de l'ingénierie particulaire sont basées sur l'utilisation du fluide supercritique. Ces méthodes sont classées en deux groupes :

- la précipitation à partir des solutions supercritiques : procédé RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solution – Expansion rapide de solution supercritique)
- la précipitation utilisant le fluide supercritique comme agent anti-solvant : procédé SEDS™ (Solution enhanced dispersion by supercritic fluid), SAS (Supercritical Antisolvent), GAS (Gas antisolvent)...

6.1.1.2.4.1 Précipitation à partir des solutions supercritiques ²⁷⁵:

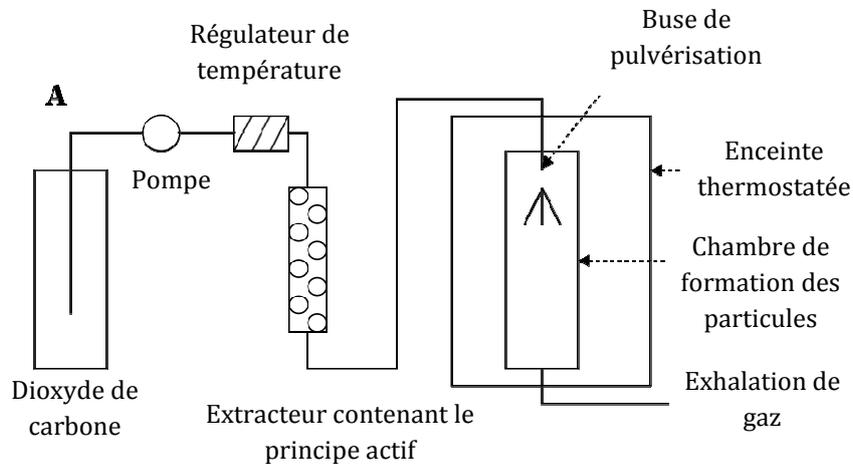


Figure A.27: Schéma du procédé d'expansion rapide d'une solution supercritique

Dans le procédé RESS (figure A.27), le principe actif est dissout ou extrait dans le solvant supercritique. La solution est ensuite pulvérisée par une buse pour former les petites gouttelettes de solution sursaturée. Une dépressurisation rapide du liquide supercritique contenant le soluté crée une forte supersaturation qui conduit à un taux élevé de nucléation avec un grand nombre de petits cristaux. Cette méthode permet de microniser les particules jusqu'à la taille nanométrique. La solubilité du principe actif dans le fluide supercritique est sa condition primordiale et sa limite. Plusieurs principes actifs peu solubles sont l'objet de la recherche sur l'utilisation de ce procédé pour améliorer les propriétés biopharmaceutiques comme : la griséoflavine ²⁵⁰, le béta-sistostérol ²⁷⁵, l'acide méfénamique, l'ibuprofène ²⁷⁶... Les conditions de l'expérimentation : la température et la pression d'extraction, le type de buse et la dimension de buse de pulvérisation, la température d'expansion et la distance de pulvérisation... influencent sur la taille et la morphologie des particules.

6.1.1.2.4.2 Précipitation utilisant le fluide supercritique comme agent anti-solvant :

Les principes actifs pharmaceutiques sont généralement peu solubles dans les fluides supercritiques. Dans ce cas, les méthodes d'anti-solvant sont répandues. Le médicament est solubilisé dans un solvant miscible avec le fluide supercritique à la température et la pression de cristallisation. Pour cristalliser le principe actif, il y a plusieurs possibilités :

- Par le simple mélange de la solution contenant le principe actif avec le dioxyde de carbone supercritique. Étant donné que le principe actif ne se dissout pas dans le fluide supercritique, la solution mélangée devient supersaturée et les particules de médicament commencent à cristalliser en forme de petits cristaux. Ce procédé s'appelle GAS (Gas anti-solvent). Il est utilisé pour fabriquer le cromoglycate disodique

- Dans la deuxième méthode, 'Aerosol Spray Extraction System' (ASES) ou SAS (Supercritical AntiSolvent) (figure A.28), la solution de principe actif est pulvérisée en fines gouttelettes dans le fluide supercritique. À cause de la faible solubilité dans le fluide supercritique, la cristallisation s'amorce et les microparticules sont ainsi formées. Plusieurs études ont employé ce procédé pour fabriquer: le sulfate de salbutamol précipité de la solution de DMSO²⁷⁷, le propionate de fluticasone cristallisé de la solution de dichlorométhane avec ou sans surfactant ²⁷⁸, le 17,21-dipropionate de beclométhasone, le 17-valérate de betaméthasone, budesonide, l'acétate de dexaméthasone, flunisolide, prednisolone et triamcinolone ²⁷⁹...

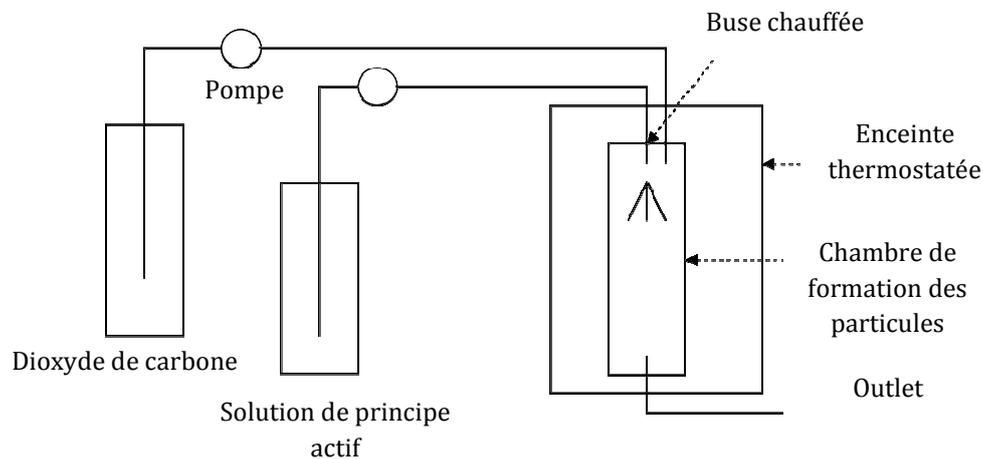


Figure A.28: Schéma du procédé de ASES (Aerosol Spray Extraction System)

Dans la troisième méthode, SEDS (Solution Enhanced Dispersion by Supercritical Fluids), la solution de principe actif est mélangée avec le fluide supercritique juste avant la pulvérisation dans une chambre de cristallisation à l'aide d'une buse co-axiale. Ce procédé permet de fabriquer les microparticules en une seule étape. Comparées avec la méthode de microbroyage à haute énergie, les particules issues de la méthode SEDS sont peu cohésives avec une cristallinité plus importante. Le solvant résiduel est négligeable. On peut citer plusieurs principes actifs pour voie pulmonaire qui sont fabriqués par ce procédé: le budesonide, le sulfate de salbutamol, le xinafoate de salmeterol, le propionate de fluticasone, cromoglycate disodique ²⁸⁰...

6.1.1.2.5 Méthode de l'atomisation suivie par la lyophilisation (spray freeze-drying) :

Dans ce procédé, la solution de principe actif est pulvérisée directement dans un milieu de congélation. Il s'agit souvent de l'azote liquide. Les gouttelettes solidifient rapidement et ensuite elles sont transférées dans un lyophilisateur pour les dessécher. Les particules produites par la méthode de l'atomisation suivie par la lyophilisation sont plus larges, plus poreuses et facilement désintégrées au cours d'inhalation par rapport aux particules fabriquées par la méthode de séchage par pulvérisation. Cependant, le refroidissement rapide de la solution facilite la cristallisation qui pourrait influencer la propriété thérapeutique notamment des protéines ²⁸¹. Cette méthode a été également étudiée pour fabriquer les particules pour inhalation de liposomes ²⁸², de vaccins ²⁸³, d'enzymes ²⁸⁴, de plasmides pour la thérapie génique ²⁸⁵ ... Elle est particulièrement intéressante pour la fabrication des particules inhalables des principes actifs très labiles tels que les protéines et les peptides : les particules sont très sèches et stabilisées. La contrainte majeure de cette technique est le coût de fabrication élevé.

6.1.1.2.6 Nanoparticules pour inhalation

Le développement récent des nanoparticules attire d'avantage l'attention de l'industrie pharmaceutique. Les nanoparticules peuvent être utilisées pour améliorer la biodisponibilité due à sa solubilité accrue et pour délivrer le médicament aux cibles spécifiques par les voies orales ou parentérales. Toutefois, l'administration des nanoparticules au niveau pulmonaire est encore très limitée car ²⁸⁶:

- les particules inférieures à 0,5 µm sont généralement exhalées
- les particules nanométriques sont très cohésives. Par conséquent, il est difficile de les manipuler.

Les nouvelles approches pour exploiter les nanoparticules pour l'inhalation sont récemment étudiées pour certains principes actifs. Les nanoparticules de médicaments sont fabriquées par différentes méthodes :

- soit par la méthode de précipitation par anti-solvant ²⁷²
- soit par la méthode d'homogénéisation à haute pression d'une suspension de principe actif, avec ou sans additive ^{287 288}

Les particules inhalables sont récupérées soit par une étape de séchage par pulvérisation, soit par la lyophilisation. Elles se présentent généralement sous forme d'agglomérats poreux qui sont susceptibles de se dés-agglomérer lors d'une inhalation. Le mélange avec un transporteur est parfois nécessaire pour améliorer l'écoulement. L'utilisation des nanoparticules pour inhalation permet d'augmenter la fraction respirable *in vitro* de principe actif, spécialement à des hautes doses d'administration en évitant l'utilisation importante des excipients ^{272 287 288}. Il est également possible de prolonger l'action thérapeutique *in vivo* de médicament au niveau pulmonaire par rapport aux particules micrométriques. Les mécanismes impliqués ne sont pas définitivement connus : le mouvement inverse des particules de principe actif par le système d'escalator muco-ciliaire qui permet d'augmenter la concentration au niveau trachéo-bronchiolaire et la capture par phagocytose. L'expiration a été évaluée de l'ordre de 8% ²⁷².

6.1.2 Fabrication des excipients dans les poudres pour inhalation

L'excipient est défini comme toute substance autre que le principe actif dont la sécurité a été évaluée de façon appropriée et qui est inclus dans un système de délivrance du médicament pour ²⁸⁹ :

- aider à la fabrication de la forme considérée
- protéger et augmenter la stabilité ; la biodisponibilité ou l'observance du patient
- aider à l'identification du produit
- fournir tout autre attribut pour la sécurité et l'efficacité complètes du médicament lors de sa conservation et de son utilisation.

Donc, la sécurité et la fonctionnalité sont 2 éléments importants de l'excipient ²⁹⁰.

Concernant la fonctionnalité, l'excipient est incorporé dans les poudres pour inhalation afin de :

- améliorer l'homogénéité du mélange et la précision de la dose
- réduire la cohésion intrinsèque du principe actif
- aider l'écoulement pour remplir dans les systèmes de délivrance (encapsulation ou mise en plaquette thermoformée), surtout dans les conditions de très faible quantité de poudre.
- servir comme indicateur de la prise de médicament (sensation d'édulcorant)
- Amélioration de la performance aérodynamique du produit
- Amélioration de la stabilité

Le tableau A.6 présente les excipients utilisables dans les poudres pour inhalation.

Tableau A.6. Les excipients utilisés dans les poudres pour inhalation (selon ¹³⁵ et ²⁹¹).

Excipients utilisés	Rôle dans système de délivrance	Statut -	Exemple de spécialité
Alpha-lactose monohydrate	Transporteur - Mélange interactif	Approuvé	Sérétide®Accuhaler Pluvinal®BDP
Lactose anhydre	Transporteur - Mélange interactif	Approuvé	Asmanex®Twishaler,
Glucose anhydre	Transporteur - Mélange interactif	Approuvé	Atrovent® Aerocap
Stéarate de magnésium	Modification de l'interaction, protection - Mélange interactif	Approuvé	Pluvinal®BDP
Mannitol	Matrice	Approuvé	Exubera®
Leucine	Amélioration de la performance	Substance endogène - Pas de donnée de toxicologie	
Lipides (cholestérol, DPPC, DSPC, DMPC...)	Enrobage, Agent de matrice, excipients pour liposome	Biocompatible - Pas de donnée de toxicologie	
Poloxamère	Surfactant pour la production des particules poreuses ou rugueuses	Toxicologie en cours à faible dose	
Sels de bile	Surfactant pour la production des particules poreuses, promoteur d'absorption	Substances endogènes - possibilité d'être approuvés à faible dose	
PLGA	Formulation de libération prolongée	Effet immunogène observé	

Excipients utilisés	Rôle dans système de délivrance	Statut -	Exemple de spécialité
Chitosan	Promoteur d'absorption	Effet pro-inflammatoire observé	

Pour la sécurité, les excipients utilisés dans la conception de poudre pour inhalation ne doivent exercer aucun effet notable sur les fonctions de la muqueuse du tractus respiratoire et de ses cils. Avec cette limitation, la liste des excipients pour inhalation n'est pas longue (Tableau A.6). Dans les préparations commercialisées, le transporteur le plus utilisé est le lactose, surtout l'alpha - lactose monohydrate ³. Avec la très faible toxicité, le glucose est également utilisé comme diluant. Récemment, le mannitol a été évalué comme le transporteur dans les poudres pour inhalation. Il présente des avantages par rapport à l'alpha-lactose monohydrate : la cristallinité importante et moins dépendante du procédé de fabrication, non-hygroscopicité, non réactivité vis-à-vis du principe actif, surtout les protéines ^{292,293}. Les autres transporteurs sont également étudiés tels que le tréhalose, le sorbitol, le maltitol et le xylitol. Cependant, ils ne donnent pas les meilleurs résultats, du point de vue de la performance aérodynamique, par rapport au lactose. En plus, leur toxicité pulmonaire n'est pas vérifiée ²⁹².

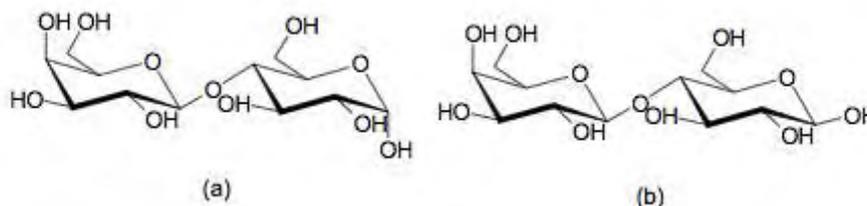


Figure A.29 : Structure chimique du α -lactose (a) et le β -lactose (b).

Le lactose est un disaccharide, composé d'une molécule de β -D-galactose (Gal) et d'une molécule de α/β -D-glucose (Glc) reliées entre elles par une liaison osidique $\beta(1\rightarrow4)$. Le nom officiel du lactose est le β -D-galactopyrannosyl(1 \rightarrow 4)D-glucopyrannose. Le lactose est couramment utilisé comme diluant dans la formulation des comprimés, des capsules... La production de lactose est une activité de l'industrie du lait. Le lactose est un glucide naturellement présent dans le lait des mammifères à une concentration de l'ordre de 4,6% soit 39% de la matière sèche ²⁹⁴. Le lactose présente deux formes anomériques : le α -lactose et le β -lactose. Ces deux formes diffèrent l'une de l'autre par la configuration de l'hydroxy situé sur le carbone C- 1 de l'unité terminale du glucose.

Le lactosérum, obtenu après séparation des matières grasses et précipitation de la caséine, en est très riche, de 70 % à 75 % des matières sèches qui contient environ 38% de lactose. Par évaporation et cristallisation du lactosérum on obtient des cristaux durs

et sablonneux d'hydrate de lactose (formule $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$). Ces cristaux sont ensuite soumis à plusieurs cycles de lavage et de recristallisation pour obtenir le lactose de grade pharmaceutique.

Une solution aqueuse de lactose, à l'équilibre thermodynamique et à température ambiante contient les deux anomères α et β avec les proportions 38 et 62 % respectivement. Cet équilibre est connu sous le terme de mutarotation. Ce phénomène explique la complexité de la forme de lactose obtenu par la cristallisation de la solution. Il y a toujours un petit pourcentage de β -lactose dans les cristaux de la forme α .

Le lactose est connu à l'état solide sous forme amorphe ou sous l'une des cinq formes cristallines suivantes :

Le α -lactose monohydrate ($L\alpha \cdot H_2O$) ;

Le α -lactose anhydre hygroscopique ($L\alpha H$) ;

Le α -lactose anhydre stable ($L\alpha S$) ;

Le β -lactose (anhydre) ($L\beta$) ;

Le(s) composé(s) moléculaire(s) α/β , de stœchiométries variables ($L\alpha/\beta$).

Les formes solides de lactose dépendent du procédé de fabrication à partir du lactosérum. Ce dernier est le résiduel du lait après la séparation des matières grasses et la précipitation de caséine. Le schéma (figure A.30) reprend les conditions d'obtention des formes de lactose à partir de la solution de lactose ²⁹⁴.

La forme la plus utilisée dans les préparations pour inhalation est l'alpha lactose monohydrate. L'alpha lactose anhydre a récemment été introduit dans l'arsenal d'excipients pour inhalation comme alternative de la forme monohydrate ^{295,296}. Pour atteindre la granulométrie du type inhalable (de l'ordre de 63-125 μm), l'alpha lactose monohydrate obtenu de la cristallisation est ensuite soumis soit au tamisage vibratoire, soit au tamisage par dépression d'air, soit au broyage ¹³⁶. Les conditions de broyage, de tamisage et les tamis utilisés ont de fortes influences sur la fonctionnalité du lactose par l'introduction dans le produit de plusieurs caractéristiques ²⁹⁵:

- une partie amorphe due à l'activation mécanique
- différents pourcentages de fines particules intrinsèques de lactose
- une différence légère de granulométrie qui perturbe fortement les caractéristiques du produit final.

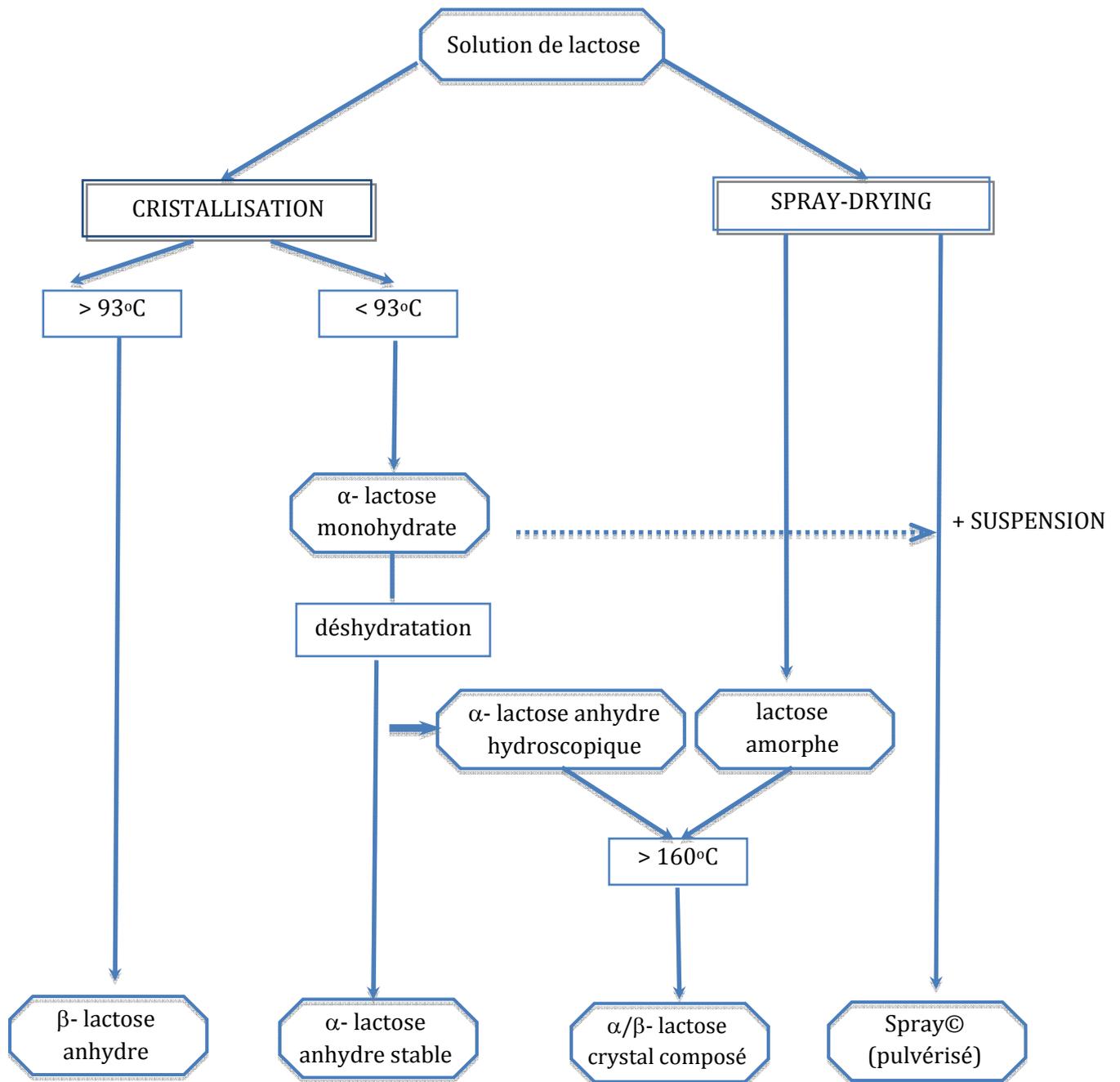


Figure A.30. Schéma des procédés de fabrication des formes de lactose

Pour modifier les propriétés de surface du lactose afin d'améliorer la performance du produit, plusieurs procédés brevetés ont été déposés. Parmi ceux-ci on peut citer :

- le procédé « smoothing » (de lissage) du lactose par la granulation avec différentes solutions hydro-alcooliques, avec ou sans additive (surtout le stéarate de magnésium)²⁰⁰.
- Le procédé de cristallisation contrôlée pour avoir des cristaux en forme d'aiguille qui présentent des meilleures propriétés aérodynamiques²⁹⁷.

- Le procédé de mécanofusion : l'enrobage à l'état solide de la surface du lactose par l'action mécanique avec ou sans additif (le stéarate de magnésium). Le lactose de mécanofusion a une texture de surface plus lisse, une bonne aptitude à l'écoulement et une faible adhésion aux particules de principe actif. Ces nouvelles caractéristiques de surface du lactose de mécanofusion permettent d'améliorer la performance aérodynamique de ses mélanges avec différents principes actifs.
298,299

Pour fabriquer le grade de lactose fin, généralement utilisé pour améliorer la performance aérodynamique du produit, l'alpha lactose monohydrate est micronisé soit par le broyage fin par les broyeurs à jet d'air, soit par la cristallisation contrôlée, soit par le séchage par pulvérisation.

Non toxique et bon marché, l'alpha-lactose monohydrate est l'excipient de choix dans la formulation de poudre pour inhalation ³⁰⁰. Par contre, plusieurs propriétés liées à la nature chimique et à l'origine font l'objet de contrôle étroit pour assurer la sécurité et la stabilité du produit ¹⁰²:

- la possibilité de réaction de Maillard qui limite l'utilisation pour les composés de type amine I (formotérol) ou les protéines, peptides...
- la teneur en endotoxine doit être inférieure à la limite réglementaire bien que cette limite soit questionnable car l'inhalation d'endotoxine provenant du lactose est très inférieure au seuil de toxicité ³⁰¹.
- les spécifications microbiologiques : absence des microorganismes spécifiques comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus*, inférieure à 10^1 d'Entérobactérie et le total nombre de microorganismes inférieur à 10^2 /g
- l'absence de la protéine de l'encéphalopathie spongiforme bovine (produit d'origine de lait bovin)
- les impuretés de protéines et peptides pourraient engendrer les réactions d'anaphylaxies dans les terrains allergiques au lait bovin ³⁰¹. Le contrôle par l'absorption UV de la solution aqueuse ou par la méthode de Kjeldahl est recommandé ¹³⁵

Les tests de fonctionnalité pour les excipients dans les formulations ne figurent pas clairement figurés dans les monographies de la pharmacopée. Dans la monographie de l'alpha-lactose monohydrate de la Pharmacopée Européenne VI, deux tests de fonctionnalité pertinents lors d'une utilisation dans les formes solides (comprimés, poudres) sont proposés mais ne sont pas obligatoires :

- la distribution granulométrique
- l'aptitude de tassement et l'indice de Hausner

Certes, ce sont des caractéristiques importantes pour la fabrication des formes solides divisées mais elles ne sont pas suffisantes pour la fabrication de poudre pour inhalation. Il manque encore les méthodes et les contrôles adéquats des propriétés

physicochimiques critiques des excipients pour la forme inhalée comme: l'état de surface, la quantité d'amorphe, la quantité de fines particules intrinsèques...¹⁰²³⁰². Les variations de performance du produit fini sont encore observées bien que les contrôles de fonctionnalité indiquent la similarité des lots d'excipient. Les différentes sources d'excipient et les opérations préalables sur l'excipient peuvent également conduire à différentes performances du produit fini³⁰³. Il est nécessaire de développer une méthode rapide, efficace et spécifique pour détecter les variations de propriétés physicochimiques critiques des excipients afin d'assurer la qualité et la reproductibilité de produit pour inhalation.

6.2 Mise en forme pharmaceutique

6.2.1 Mélange avec un transporteur

Étant donné que la taille inhalable de principe actif est souvent inférieure à 5 µm, l'interaction entre les particules surpasse la gravité d'où la cohésivité de la poudre. Pour assurer l'écoulement dans la production industrielle, le mélange avec un transporteur ayant une taille dix fois plus grande que la taille de principe actif est souvent réalisé pour former un mélange dit ordonné^{3,304}.

Le mélange est une opération commune et très importante dans toutes les formes pharmaceutiques. Il a pour but de réaliser un produit homogène à partir de plus de deux constituants, dont un principe actif et de rendre possible la production industrielle de la forme pharmaceutique. L'homogénéité du mélange doit se conserver au cours des opérations physiques successives.

Dans le cas de poudre pour inhalation, le mélange revêt les aspects essentiels à la performance du produit final :

- Aspect technologique : un mélange homogène du transporteur et du principe actif avec des propriétés physiques très différentes.
- Aspect thérapeutique : deux éléments importants qui assurent la performance de la poudre pour inhalation. Ce sont l'homogénéité de la dose émise à partir de système de délivrance et la libération et pénétration des particules respirables aux niveaux de sites d'action (aux poumons).

6.2.1.1 Théorie de mélange

En étudiant les paramètres caractérisant le mélange, Hersey a développé la conception du mélange ordonné⁶⁴. Cette conception est basée sur la notion de mélange structuré selon laquelle les fines particules de principe actif adhèrent à la surface des particules de transporteur plus volumineuse. Il se forme ainsi les unités ordonnées qui se diffèrent du mélange randomisé qui contient des particules de tailles similaires et distribuées entre-elles de façon aléatoire. La formation de mélange ordonné est généralement réalisée

dans un mélangeur à chute libre, les grandes particules d'excipients dispersent l'agglomérat de fines particules de principe actif et servent comme un support pour leur adhésion. L'enrobage sec des particules solides sur un support est également considéré comme un mélange structuré ³⁰⁵. Les mélanges ordonnés donnent non seulement une excellente homogénéité mais sont également peu sensibles aux phénomènes de ségrégation particulaire. La ségrégation aurait lieu en effet par la différence en taille des unités structurées ou la séparation des fines particules à partir des unités structurées ^{305,306,307}. Actuellement, les termes « mélange interactif » et « mélange non-interactif » sont préférés aux anciens noms « mélange ordonné » et « mélange randomisé » ^{308,309}.

Concept de « mélange total » ^{62,70}

Le mélange totalement ordonné ou le mélange totalement randomisé idéal n'existe pas dans la réalité. Chaque composant de mélange a une granulométrie plus ou moins étendue. Pour chaque particule d'un composant, les propriétés adhésives - cohésives ne sont pas les mêmes pour toute la population de particules. Cette diversité rend le phénomène de mélange beaucoup plus complexe. Toutes les simplifications de la description de mélange conduisent à l'éloignement de la réalité. Une approche thermodynamique a été développée pour mieux comprendre le procédé de mélange : concept de « mélange total ». Selon ce concept, à un moment donné, il existe un équilibre entre le mélange interactif et le mélange non-interactif.

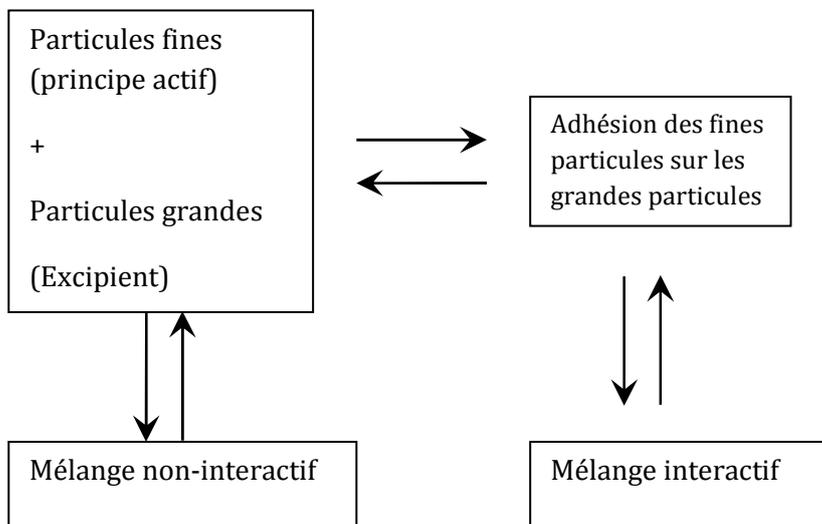


Figure A.31. Equilibre dans le « mélange total »

Dans un mélange avec des conditions précises, il existe les unités structurées contenant les fines particules adhérant aux grandes particules et l'inverse, les grandes particules libres, les fines particules libres et les agglomérats de fines particules en cas d'excès de fines particules.

Plusieurs paramètres influencent l'adhésion des particules pour former les unités structurées :

- la morphologie des grandes particules, spécialement la présence des cavités sur la surface ^{62,306}
- l'électrostaticité intrinsèque ou acquise à cause de frottement au cours du mélange ³¹⁰.
- La présence de l'agent ternaire qui modifie l'état de surface des grandes particules ³¹¹.
- L'humidité relative environnementale conditionne la force d'attraction capillaire entre les particules ¹⁵⁹.

6.2.1.2 Les mécanismes de mélanges et les mélangeurs ^{312,313}

Trois mécanismes de mélanges sont généralement décrits :

- Mélange par diffusion: il s'agit d'un déplacement individuel de façon aléatoire des particules initié par des chocs et aboutissant à une redistribution individuelle des particules.
- Mélange par convection: un groupe de particules est mis en mouvement au sein du mélangeur. Ce mécanisme fait intervenir le plus souvent une force extérieure telle qu'une pale d'agitation.
- Mélange par cisaillement : sous l'action mécanique, des plans de glissement de couches de particules s'établissent au sein de la masse de poudre. Le mouvement relatif de ces plans implique un brassage des particules avec une efficacité intermédiaire entre les deux mécanismes précédents.

Ces trois mécanismes de mélange peuvent intervenir en même temps pendant un procédé de mélange. Il est cependant possible de déceler le mécanisme prédominant qui dépend de l'action mécanique donc du type de mélangeur et des propriétés des particules solides en mouvement.

Il y a trois groupes de mélangeur fréquemment utilisés dans le domaine pharmaceutique ²⁶⁷:

- les mélangeurs par retournement: mélangeur à tambour rotatif, mélangeur double cône, mélangeur cubique, mélangeur en V, mélangeur à multiaxe de révolution type (Turbula)...
- les mélangeurs à système d'agitation interne: Mélangeur – granulateur à socs de charrue (Lodige), mélangeur conique à vis (Nautamix), mélangeur à rubans, ...

- les mélangeurs– granulateurs à haut cisaillement

6.2.1.3 Échantillonnage ³¹⁴³¹²

Pour estimer la qualité de mélange, en terme d'homogénéité de teneur en principe actif, les extrapolations des valeurs vraies à partir des valeurs expérimentales sont réalisées. L'échantillonnage est donc une opération très importante qui doit être soigneusement effectuée pour assurer une estimation proche de la réalité.

Les deux règles d'or de l'échantillonnage des poudres sont :

Règle 1 : une poudre ne doit être échantillonnée qu'en mouvement,

Règle 2 : un échantillon doit être pris sur l'intégralité d'une ligne du procédé pendant un certain temps.

Or, en pratique, c'est difficile de respecter ces deux règles à cause des limites des moyens actuels d'échantillonnage.

Les facteurs déterminants d'un échantillonnage correct sont :

- la méthode de prélèvement des échantillons
- la méthode de localisation des prélèvements
- le nombre de prélèvement
- la taille de l'échantillon

La méthode de prélèvement des échantillons influence directement la qualité de l'échantillon. Cette méthode ne doit pas provoquer des perturbations au sein du mélange et de l'échantillon et doit être sensible aux changements dans le mélange. Il y a plusieurs façons de prélever les échantillons à partir d'une poudre :

- échantillonnage d'un solide en mouvement par les échantillonneurs spécifiques. Cette méthode s'applique bien sur les poudres à libre écoulement.
- échantillonnage d'un solide à l'état statique à l'aide des sondes de prélèvement. Les perturbations engendrées par la pénétration de la sonde dans le lit de poudre peuvent fausser les résultats.

La localisation des échantillons permet de distribuer les prélèvements de façon représentative du mélange. Le récipient est subdivisé en zones de prélèvement et l'échantillonnage est ainsi effectué suivant un plan prédéfini.

Le nombre d'échantillon est déterminé selon les lois statistiques. En effet, le coefficient de variation qui permet d'estimer l'homogénéité de mélange est défini comme l'équation suivante :

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - x_m)^2$$

Avec : s , l'écart - type observé

x_i teneur en principe actif de l'échantillon i

x_m teneur moyenne en principe actif de n échantillons observés.

La fonction discriminante χ^2 est souvent utilisée pour définir un intervalle de confiance sur la variance calculée par cette méthode. Le gain de réduction d'un intervalle de confiance à 95% défini par la loi du χ^2 devient minime pour $n \geq 100$. En pratique, le nombre n est souvent choisi à 20 ce qui permet une bonne estimation de variance s . (figure)

La taille de l'échantillon doit refléter la qualité de mélange liée aux propriétés d'usage attendues. « L'échelle d'observation » est ainsi définie comme la plus petite quantité de matière présente dans le volume du conditionnement élémentaire d'un mélange

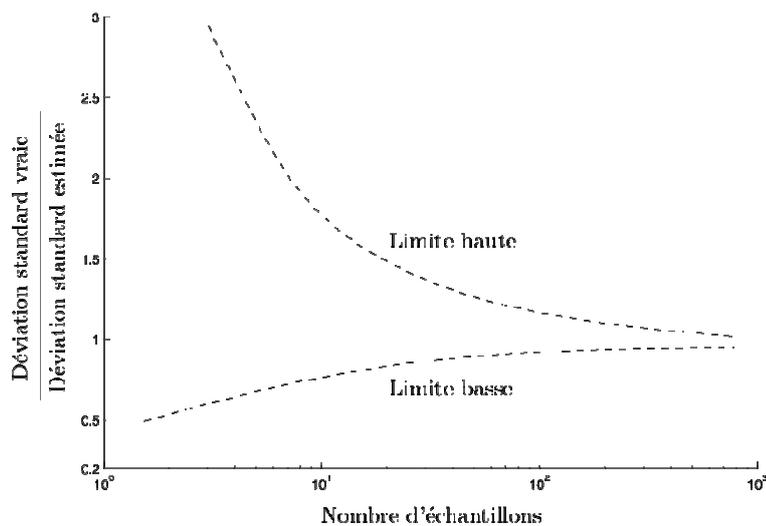


Figure A.32 : Évolution des valeurs des bornes d'un intervalle de confiance à 95% en fonction de nombre d'échantillons observés selon la loi χ^2

6.2.1.4 Transposition d'échelle

La transposition d'échelle de l'opération de mélange est un sujet très intéressant, mais peu exploité. L'étude de mélange est généralement réalisée dans les conditions de laboratoire dans les mélangeurs de modèle réduit. Malgré plusieurs études sur le mélange des poudres, l'extrapolation industrielle à partir des résultats de laboratoire fait appel encore beaucoup à l'expérience sur le terrain. La formulation des problèmes

passer à travers des nombres adimensionnels comme : le nombre de Reynolds et le nombre de Froude ³¹⁴.

Le nombre de Reynolds :

$$Re = \frac{\rho ND^2}{\eta}$$

Le nombre de Froude

$$Fr = \frac{ND^2}{g}$$

ρ étant la masse volumique (kg/m³)

N la vitesse de rotation (tours/s)

D le diamètre efficace (m)

η la viscosité dynamique (Pa/s)

g l'accélération de la pesanteur (9,81 m/s²)

Pour réaliser une comparaison entre un modèle de laboratoire et sa version en production, trois conditions préalables doivent être prises en considération :

- la similitude géométrique
- la similitude cinématique (même système de poudre)
- la similitude dynamique : le nombre de Reynolds de l'appareil pilote est égal au nombre de Reynolds de l'appareil industriel. Le nombre de Froude intervient dans le cas des mélangeurs où le seul facteur significatif est le rapport des forces centrifuges aux forces de gravité (les mélangeurs à chute libre).

Cette théorie dimensionnelle permet de passer des résultats expérimentaux sur un modèle réduit à ceux obtenus sur l'appareil industriel. Les paramètres en échelle industrielle doivent remplir les conditions pour que le nombre de Reynolds ou le nombre de Froude conserve leur valeur d'échelle pilote. Les études récentes sur la transposition d'échelle du mélange étudient un paramètre commun de mélange : le déplacement des particules. Ces calculs sont mathématiquement compliqués. En pratique, ils ne donnent pas de meilleurs résultats par rapport aux nombres adimensionnels ³¹⁵. Dans les grands volumes, les forces de gravité et de convection prennent des valeurs plus importantes de telle sorte qu'elles dépassent les forces cohésives. Le mélange des mélanges cohésifs dans les mélangeurs à grande échelle a donc moins de problème par rapport aux mélangeurs de petite taille ³¹⁶. L'effet de transposition d'échelle sur la performance aérodynamique du mélange n'est pas encore étudié bien que les modifications de forces mises en jeu soient considérables.

La dernière avancée dans le domaine de mélange industriel est le contrôle en ligne de l'homogénéité de mélange. Les méthodes de mesures « en ligne » effectuent des échantillonnages directement sur la chaîne de production. Elles réalisent ensuite des mesures locales et rapides où le matériau analysé passe devant une sonde. Plusieurs approches sont employées comme : méthode de mesure capacitive, méthode optiques, méthode de spectroscopie proche infrarouge et méthode d'analyse d'image ³¹³. Parmi celles-ci, la méthode de la spectroscopie proche infrarouge (NIR) aboutit à des applications industrielles. La spectroscopie proche infrarouge est une technique d'analyse qui permet de détecter la composition chimique beaucoup plus rapidement que les dosages chimiques classiques. L'analyse proche infrarouge rend possible des analyses multicomposants simultanées avec une grande rapidité, une faible quantité de produit qui peut être récupérée si nécessaire, un coût d'analyse faible. Cette méthode est intégrée dans les nouvelles versions de mélangeurs qui permettent l'évaluation de l'homogénéité de mélange en continu et de déterminer le point d'arrêt de mélange.

6.2.1.5. Les paramètres de mélange influençant la qualité de poudre pour inhalation :

Le mélange de principe actif cohésif avec un transporteur dans la fabrication de poudre pour inhalation doit résoudre deux problématiques opposées :

- d'une part, la cohésion entre les fines particules de principe actif et celles de transporteur doit être suffisamment importante pour stabiliser le mélange interactif. L'homogénéité de mélange est ainsi assurée tout au long du procédé de conditionnement.
- d'autre part, pour être efficace, les particules de principe actif doivent être libérées au cours de l'inhalation de la poudre.

À côté des propriétés des particules mises en jeu, les conditions de mélange exercent des influences directes sur l'interaction médicament – transporteur qui conditionne la performance du produit final. Les études sur le mélange de poudre pour inhalation montrent l'importance des paramètres suivants :

- le ratio principe actif/transporteur ou la concentration du principe actif.
- le type de mélangeur
- le temps de mélange et l'intensité de mélange
- les conditions climatiques au cours du mélange
- l'ordre de l'addition des composants.

Le ratio de principe actif/transporteur le plus utilisé est 1/67,5 (m/m)³. Selon la théorie de « sites actifs », il existe un seuil de concentration de principe actif où les sites actifs à haute énergie d'adhésion sont totalement couverts par les fines particules de principe actif. Au-dessus de cette concentration, les particules de principe actif sont plus mobiles d'où l'augmentation de la fraction respirable en augmentant la concentration de principe actif libre dans le mélange³¹⁷. Cependant, à une concentration élevée de principe actif cohésif, l'homogénéité du mélange est détériorée¹⁷⁶.

L'augmentation du temps de mélange améliore généralement l'homogénéité et la stabilité des mélanges interactifs. L'influence du temps de mélange sur la performance aérodynamique des poudres pour inhalation a été étudiée. En général, le prolongement du temps de mélange conduit à l'augmentation de la fraction respirable, sauf dans le cas des mélanges à faible concentration de principe actif (0,4%). La raison possible est l'efficacité de dés-agglomération des particules de principe actif^{67,318} et de la formation des agglomérats principe actif – fines particules de lactose. Cependant, cette relation est affectée par la concentration de principe actif, la présence des fines particules de lactose ou l'agent ternaire et l'ordre de l'addition des composants³¹⁹. L'augmentation de temps de mélange peut favoriser l'adhésion des particules de principe actif sur le transporteur. Ce phénomène est plus remarqué dans les mélanges à faible concentration de principe actif¹⁷¹. C'est la raison pour laquelle, la fraction respirable de ces mélanges diminue en augmentant la durée de mélange pour le mélange à faible concentration.

Les études sur le mélange de poudre pour inhalation ont principalement utilisées le mélangeur par retournement (Turbula). Ce type de mélangeur est choisi pour les raisons suivantes :

- la possibilité de la formation de mélange interactif sans mise en jeu de forces importantes.
- la facilité de nettoyage

Le mélangeur à haut cisaillement a été récemment utilisé pour mélanger les formulations de poudre pour inhalation. Ce type de mélangeur permet de briser les agglomérats de poudre cohésive, spécialement les principes actifs pour inhalation¹⁵⁹. Cela permet d'améliorer l'homogénéité des mélanges très cohésifs ou à des concentrations de fines particules importantes¹⁷⁶. En plus, sous l'action mécanique de la pale de mélange, une petite quantité de fines particules de lactose est formée *in situ*. Cela améliore la performance aérodynamique du mélange par rapport à la méthode utilisant le mélangeur Turbula³²⁰. La matière de construction de cuve de mélange a une importante inattendue sur la qualité de mélange interactif. Elle peut déstabiliser le mélange en altérant la charge électrostatique de surface des différents composants du mélange³¹¹. Ainsi, dans le cas de mélange de sulfate de salbutamol avec l'alpha lactose monohydrate, la surface de contact en plastique doit être évitée pour assurer la bonne homogénéité du mélange³²¹.

Les conditions environnementales lors du mélange influencent directement la qualité du mélange. L'augmentation de l'humidité relative diminue la charge triboélectrique des particules de sulfate de salbutamol et de bromure d'ipratropium monohydrate au cours du mélange ²⁴³. Cependant, une couche fine d'eau pourrait être formée à la surface des particules. L'adhésion et l'agglomération des particules sont renforcées par la force capillaire. Dans le cas de dissolution des composants dans l'eau, la formation de pont solide entre les particules serait possible. ¹⁵⁹

L'effet de l'ordre d'addition de fines particules au cours du procédé de mélange est étudié. Selon la théorie des sites actifs, quand les fines particules de transporteurs sont mélangées préalablement avec les grandes particules de transporteurs, les premières occuperaient les sites à haute énergie sur la surface des dernières. L'adhésion du principe actif sur le transporteur est ainsi réduite d'où l'amélioration de la performance aérodynamique du mélange interactif ³²². Une autre étude a montré que l'augmentation de la fraction respirable du mélange est indépendante de l'ordre d'addition des fines particules. La raison possible serait la redistribution de l'adhésion sur la surface de transporteur due à la longue durée de mélange ³²³.

La méthode de mélange dans le milieu liquide avec l'aide de l'ultrason a été récemment utilisée. Cette nouvelle méthode permet d'améliorer l'homogénéité du mélange et la stabilité de la performance aérodynamique ³²⁴.

Il y a peu d'études de l'influence des conditions de mélange sur la qualité de poudre pour inhalation due à la complexité des facteurs. Les résultats obtenus sont encore très divers. L'interaction entre les conditions de mélange, les propriétés du principe actif utilisé et la formulation étudiée (la concentration, l'agent ternaire) doivent être prises en compte afin de fabriquer une poudre pour inhalation avec la qualité optimale ³¹⁹. Les études approfondies sur ce sujet sont nécessaires pour mettre en évidence les mécanismes responsables de l'effet de mélange sur la performance aérodynamique des poudres pour inhalation.

6.2.1.6. Stratégie de formulation – Ajout de l'agent ternaire ou de lactose fin:

L'addition de fines particules de lactose est souvent utilisée pour améliorer la performance du mélange de poudre pour inhalation ^{25,173}. Le mécanisme possible est multiple ^{325 198}:

- le recouvrement des sites à haute énergie de surface
- la formation d'agglomérats peu cohésifs de principe actif – lactose fin ³²⁶
- le remplissage des cavités sur la surface du transporteur

- La diminution de la force d'impaction des particules de principe actif sur celles du transporteur par adsorption du choc des collisions entre les particules pendant le mélange ¹⁷⁸.
- l'augmentation de l'énergie d'aérosolisation du mélange au cours d'inhalation ⁸³.

La taille des fines particules de lactose¹⁷⁵, leur concentration ¹⁹⁶ sont les facteurs déterminant l'effet d'amélioration sur la performance aérodynamique du mélange. La taille optimale des fines particules de lactose est de l'ordre de 5 µm. Les fines particules de lactose qui ont une taille supérieure à 10 µm peuvent servir comme des nouveaux supports pour l'adhésion des fines particules de principe actif. Il existe une concentration optimale de fines particules de lactose dans le mélange pour améliorer la performance du mélange. Au-delà de cette concentration, l'homogénéité et la performance diminuent. Le mécanisme impliqué dans cette observation n'est pas encore résolu.

Pour diminuer l'interaction entre les fines particules de principe actif avec celles du transporteur, une autre approche utilisée est d'ajouter un agent ternaire. Ce dernier va recouvrir les sites à haute énergie de la surface du transporteur et diminuer l'adhésion des particules du principe actif sur la surface du transporteur ²¹¹. L'origine de cette approche remonte à l'étude de Staniforth en 1982 ³¹¹ sur l'effet de l'agent ternaire sur la force d'adhésion dans le mélange ordonné. Le stéarate de magnésium ¹⁹⁶, la leucine, la lécithine... ont été étudiés comme des agents ternaires pour les mélanges de poudre pour inhalation. L'inclusion de stéarate de magnésium dans la formulation permet d'augmenter la fraction respirable et la stabilité à l'humidité du mélange de l'alpha-lactose monohydrate avec le fumarate de formotérol ¹⁹⁶. L'effet stabilisant pourrait être dû à l'hydrophobicité du stéarate de magnésium. L'addition de leucine micronisée par le séchage par pulvérisation dans la formulation de sulfate de salbutamol augmente la dose délivrée de principe actif due à sa capacité d'aide à l'écoulement. Cependant, il n'y a pas d'effet sur la dose de fraction de particules fines ³²⁷. Par ailleurs, il y a peu de données sur la toxicité pulmonaire des agents ternaires. C'est la raison pour laquelle l'utilisation des agents ternaires est encore très limitée.

6.2.2 Agglomération

Une autre stratégie de formulation des poudres pour inhalation est l'agglomération de principe actif seul ou avec des fines particules de lactose. Les agglomérats donnent une meilleure fluidité qui facilite le conditionnement. En plus, l'écoulement des agglomérats est la condition primordiale pour le dosage de poudre dans les inhalateurs à système réservoir.

Le principe est de réduire la cohésion entre les particules de même nature par les procédés de fabrication lors de l'agglomération du principe actif seul. Le sulfate de

terbutaline micronisé est forcé à travers un tamis et transformé par sphéronisation en agrégats peu cohésifs qui sont assez solides pour être manipulés et chargés dans l'inhalateur mais assez facilement cassés pour libérer des particules inhalables. Les agglomérats sont de taille de l'ordre de 700 μm , donc ont un très bon écoulement. Cette technique permet également de diminuer l'influence des forces électrostatiques ¹⁹⁶. Cependant, pour les principes actifs hygroscopiques, les agglomérats durcissent au cours de stockage. Pour prévenir ce problème, les inhalateurs sont dotés de desséchant ⁵⁴. Pourtant, dans le cas de l'inhalateur à système réservoir des agglomérats tel que Turbuhaler®, la dose nominale et la dose délivrée sont encore très variables par rapport à celles d'inhalateur à doses prémésurées. Cela peut poser des problèmes réglementaires pour certains pays ³²⁸.

Une autre approche pour fabriquer les agglomérats a été étudiée par la granulation humide en turbine du principe actif avec un solvant organique. Les différents solvants organiques qui ne solubilisent pas le principe actif sont testés. L'acétone a été trouvée le meilleur solvant pour former des agglomérats peu cohésifs de sulfate d'isoprénaline ³²⁹.

La granulation avec des fines particules de lactose a été également utilisée pour former des agglomérats peu cohésifs. Après un mélange avec le lactose fin par mélangeur à haut cisaillement pour assurer la dispersion maximale des particules, le mélange est forcé à travers un tamis pour former des agglomérats ayant une très bonne aptitude à l'écoulement. Cette méthode améliore la dose délivrée et la fraction respirable du nécrodomile disodique par rapport à l'agglomération de principe actif seul. Pour le sulfate de terbutaline, l'addition de fines particules de lactose dans les agglomérats n'a pas d'effet significatif sur la fraction respirable mais elle permet d'augmenter la dose émise ³²⁶.

6.2.3 Les larges particules poreuses

Basé sur le diamètre aérodynamique des particules, Edward et al. ²⁰⁴ a proposé une approche innovante pour fabriquer les poudres pour inhalation. Selon cette approche, bien que le diamètre géométrique des larges particules poreuses soit supérieur à 5 μm , leur diamètre aérodynamique est en effet inférieur à cette taille selon la relation ³³⁰:

$$\sqrt{C_{ae}} d_{ae} = d_v \left[\frac{\rho_p C_p}{\chi \rho_0} \right]^{1/2}$$

Avec C_{ae} et C_p sont les facteurs de lissage de Cunningham. Ils sont proches de l'unité lorsque le d_v est supérieur à 1 μm

ρ_p et ρ_0 sont respectivement la densité particulaire et la densité unitaire

χ est le facteur de forme.

La densité et la forme des particules jouent un rôle important dans le processus d'aérosolisation. En réduisant la densité des particules, le diamètre aérodynamique diminue bien que la taille géométrique soit importante. Les larges particules poreuses ayant un diamètre géométrique supérieur à 5 µm et une densité inférieure à 0,4 g/cm³ offrent des avantages dans l'administration pulmonaire tels que ²⁰⁴:

- une diminution de la cohésivité et de l'agglomération ce qui permet une amélioration de l'écoulement de la poudre. La meilleure fluidité de poudre augmente la dose délivrée et diminue la variabilité de la dose délivrée ³³¹.
- une meilleure fraction respirable par rapport aux particules non poreuses qui est peut-être due à la diminution de la probabilité de dépôt des particules dans le tractus respiratoire supérieur.
- Une augmentation de la biodisponibilité et de l'efficacité thérapeutique, spécialement la prolongation de l'effet car les larges particules poreuses échappent au mécanisme d'élimination par phagocytose.

Les larges particules poreuses sont généralement fabriquées par les techniques suivantes :

- l'encapsulation du principe actif par un polymère biodégradable (PLGA) par la méthode d'émulsion ou de double émulsion. Les particules poreuses sont récupérées par la lyophilisation. ²⁰⁴
- le séchage par pulvérisation d'une solution organique du principe actif avec un polymère biodégradable ou biocompatible. Les particules larges et poreuses sont formées en variant les conditions de séchage ²⁰³.
- Le séchage par pulvérisation d'une émulsion ou suspension composée du principe actif, du surfactant (le poloxamère ou les dérivés de phosphatidylcholine) et les diluants. L'addition d'un propellant dans la phase lipophile permet de diminuer la densité et d'introduire la structure poreuse ³³².

La technologie Pulmosphère® a utilisé cette approche pour améliorer la performance aérodynamique et thérapeutique des médicaments par voie inhalée.

6.3 Conditionnement dans les systèmes de délivrance ^{333 334 335};

Les formulations de poudres une fois fabriquées doivent être conditionnées dans leur inhalateur. Les poudres seront mises en gélules, en alvéoles ou directement dans les inhalateurs de système réservoir. Le conditionnement de poudre pour inhalation pose différentes problématiques importantes telles que :

- la très faible quantité de poudre pour chaque dose unitaire : jusqu'à 50 mg pour les mélanges et de l'ordre d'une centaine de microgrammes pour le principe actif seul.

- l'écoulement médiocre de la poudre pour inhalation malgré diverses approches pour s'affranchir de cette contrainte.
- la sensibilité vis-à-vis des conditions climatiques, spécialement l'humidité relative
- la possibilité de ségrégation du mélange au cours du remplissage.
- l'influence du procédé de conditionnement sur la performance du produit fini, spécialement la pression sur le réarrangement du lit de poudre lors de remplissage.
- l'interaction entre les articles de conditionnements primaires et la formulation.

Il y a deux techniques récemment développées et utilisées pour le dosage de poudre pour inhalation: la technique utilisant le système d'air comprimé (Omnidose® d'Harro Holiger) et la technique utilisant la vibration (Xcelodose® de Capsulgel, Quantos Powder Dispensing System® de Mettler Toledo, Powdernium® de Symyx Technologies)

Dans la technique utilisant le système d'air comprimé, un vide approprié est appliqué sur le lit de poudre pour aspirer une quantité exacte dans une cavité doseuse d'un tambour tournant. En position de remplissage, le vide est coupé et la poudre est extraite dans la gélule ou l'alvéole. Cette technique a été évaluée et a montré son efficacité dans les études de recherche et développement des formulations de poudre pour inhalation jusqu'à la dose unitaire de 1 mg³³⁶. L'effet du vide et de l'air comprimé sur la poudre est encore discutable et serait un sujet de recherche intéressant.

Xcelodose® de Capsulgel utilise la vibration pour le dosage des très faibles quantités de poudre. La vibration introduite dans un récipient de poudre permet de secouer le lit de poudre, de casser les agglomérats de poudre et d'améliorer ainsi son écoulement. Cependant, la vibration peut conduire à la ségrégation du mélange.

Certes, il n'y a pas une méthode universelle pour toutes les formulations. Le choix d'une technique de conditionnement dépend des propriétés de chaque produit. L'influence du procédé de conditionnement sur la qualité de poudre pour inhalation doit être étudiée pour mieux contrôler le procédé de fabrication.

Dans les études de recherche, le remplissage des doses dans les gélules ou dans les blisters est généralement manuel. Or, le conditionnement semi-industriel ou industriel peut exercer des forces totalement différentes sur le mélange qui peuvent modifier sa performance aérodynamique. Une légère compression préalablement appliquée sur le mélange peut changer la fraction respirable du mélange de l'alpha-lactose monohydrate avec le budésonide³⁰³. Il est nécessaire de prévoir le mécanisme de remplissage et de conditionnement de mélange lors de la phase de développement pour assurer l'extrapolation possible des résultats aux étapes suivantes.

Les articles de conditionnement primaire peuvent avoir une influence sur la performance du système de délivrance. Pour les gélules, les gélules de gélatine sont

souvent utilisées. Récemment, les gélules de HPMC (hydroxypropylmethyl cellulose) offrent une nouvelle alternative pour les poudres plus sensibles à l'humidité. En effet, la perforation de la gélule de HPMC lors de la prise de médicament est moins affectée par l'humidité environnementale que celle de la gélule de gélatine. Cela assure la qualité du produit toute au long de sa vie ³³⁷.

6.4. Aspect réglementaire

La Pharmacopée Européenne (VIIème) a classé les poudres pour inhalation dans le groupe des « préparations pour inhalation » qui sont destinées à être administrer dans la partie inférieure des voies respiratoires en vue d'une action locale ou systémique. Elles sont présentées sous forme de poudre unidose ou multidose. Elles sont délivrées avec un inhalateur approprié :

- soit les inhalateurs comportant un réservoir, un système doseur intégré assure la libération des doses unitaire à partir d'une poudre ou mélange de poudres.
- soit les inhalateurs à doses pré-conditionnées, qui sont chargés avec des unités de prise telles que des capsules ou des alvéoles en complexe d'aluminium.

6.4.1 Caractéristiques de la poudre pour inhalation – La dose délivrée et la dose des particules fines ³³⁸⁻³⁴¹

Après inhalation des poudres pour inhalation, le patient ne reçoit qu'une partie de la dose nominale qui est la dose affichée sur l'étiquette. Cette dose est définie comme la dose délivrée (ou dose émise) à partir de l'inhalateur. Une partie de dose nominale reste sur l'inhalateur au cours d'inhalation. La dose de principe actif atteignant effectivement la cible pulmonaire est extrêmement variable selon le patient, le dispositif d'inhalation et la formulation. Cette dose qui est généralement très inférieure à la dose délivrée par le produit, est définie comme la dose des particules fines.

La résistance interne des inhalateurs à poudre sèche est très variable, et le débit obtenu par un patient au cours d'une inspiration peut aller de 25 L/min dans un inhalateur à 100 L/min dans un autre. Or le débit instauré affecte l'entraînement et la désagrégation de la poudre, et peut donc avoir une influence importante sur la dose délivrée et la concentration des particules fines respirables. Deux paramètres critiques doivent être respectés pour simuler le mode d'inhalation du patient :

- le volume d'inspiration fixé à 4L qui est la valeur moyenne d'un homme de 70 kg.
- La perte de charge due à la résistance de l'inhalateur.

Les pharmacopées sont parvenues à une harmonisation sur cette question en imposant une valeur de 4 kPa de pression différentielle à travers l'inhalateur. Une fois la pression différentielle établie, le débit sortant est mesuré par un débitmètre étalonné. La durée d'essai T est définie comme le temps, en secondes, correspondant au passage de 4 litres d'air à travers l'embout de l'inhalateur au débit d'essai sortant.

6.4.1.1. La dose délivrée et l'Uniformité de la dose délivrée

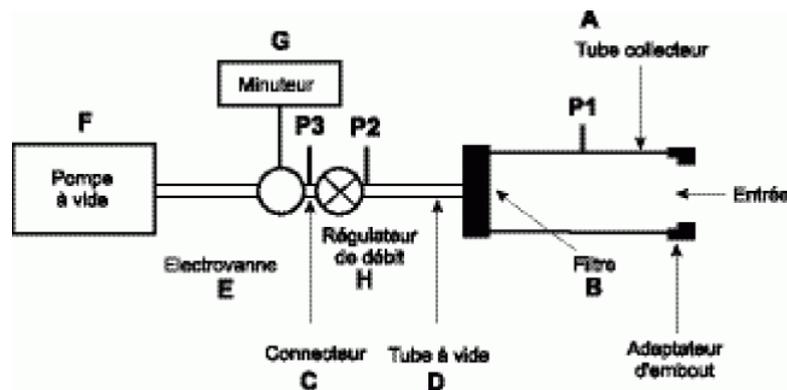


Figure A.33 L'appareil pour déterminer l'uniformité de la dose délivrée pour les poudres pour inhalation selon la Pharmacopée Européenne.

La Pharmacopée Européenne et la Pharmacopée américaine imposent la spécification de l'uniformité de la dose délivrée. Ce test est réalisé avec un appareillage spécifique (figure A.32) tout en respectant les conditions opératoires : 4kPa de perte de charge et 4L d'air à travers le système. La préparation satisfait à l'essai si, sur les 10 résultats obtenus, 9 sont compris entre 75 % et 125 % et tous entre 65 % et 135 % de la valeur moyenne. Si 2 ou 3 valeurs se situent en dehors des limites de 75 à 125 %, répétez l'essai sur 2 autres inhalateurs. Au maximum 3 des 30 valeurs obtenues se situent en dehors des limites de 75 à 125 % et aucune ne se situe en dehors des limites de 65 à 135 %.

6.4.1.2. La dose des particules fines

La dose des particules fines est déterminée à l'aide des impacteurs à cascade qui utilisent une brusque variation de direction du fluide pour mesurer le diamètre aérodynamique par impaction. Les appareils proposés par les Pharmacopées sont similaires sauf certains cas spéciaux tel que :

- l'appareil A de la pharmacopée européenne – l'impacteur à cascade en verre qui ne figure pas dans la pharmacopée américaine
- l'appareil 2 de la pharmacopée américaine – impacteur de Marple Miller qui n'est pas recommandé par la Pharmacopée Européenne.

Dans les impacteurs, on force les particules à passer dans les ajustages de diamètre W afin d'imposer une vitesse U aux particules. En regard de l'ajustage est positionné un plateau (réceptacle) imposant à l'écoulement une déviation de 90° . Les particules ayant une inertie suffisante impactent le plateau, les autres suivent le flux gazeux. Le nombre de Stokes (St) permet de prédire l'impaction ; ce nombre est fonction de la vitesse des particules U , du diamètre de l'ajustage W et les propriétés aérodynamiques de particules selon l'équation suivante ³⁴²:

$$St = \frac{\rho_{ae} \cdot C_{ae} \cdot d_{ae}^2 \cdot U}{9 \cdot \mu \cdot W}$$

Avec d_{ae} le diamètre aérodynamique des particules

ρ_{ae} la densité de particule

μ la viscosité de l'air

C_{ae} le facteur de lissage des particules ayant un diamètre aérodynamique d_{ae}

Si le nombre de Stokes est supérieur à une valeur définie par la géométrie de l'impacteur, la particule sera impactée. Des impacteurs à cascade sont construits en plaçant plusieurs étages d'impaction en série, avec des ajustages de plus en plus petits. Le diamètre aérodynamique des particules recueillies sur chaque étage devient de plus en plus faible. La propriété spécifique de chaque étage est le diamètre de coupure (d_{50}). Le d_{50} est défini comme le diamètre aérodynamique pour lequel, 50% des particules sont entraînées par le fluide et 50% des particules sont impactées sur le réceptacle. La relation entre le d_{50} et le nombre de Stock est définie par l'équation :

$$\sqrt{C_{50}} d_{50} = \left[\frac{9\pi\mu n W^3}{4\rho_{ae} C_{ae} Q} \right]^{1/2} \sqrt{St_{50}}$$

St_{50} est le nombre de Stokes St correspondant au coefficient de collection de particule de 50%

n est le nombre de l'orifice d'ajustage pour chaque plateau.

Il est démontré que la valeur de \sqrt{St} reste plus ou moins constante, proche de 0,495, si le nombre de Reynolds du flux à travers les ajustages est compris dans la plage 500 à 3000. Par conséquent, il est possible de calculer le diamètre de coupure à partir du débit appliqué et du diamètre de coupure à vitesse connue.

Les impacteurs sont utilisés depuis longtemps dans les études sur l'aérosol dans l'air, sur l'hygiène et la sécurité de travail (figure). L'impacteur à cascade Andersen en métal (Appareil D dans la Pharmacopée Européenne et l'appareil 1 de la Pharmacopée américaine) est l'appareil de référence. Cependant, les diamètres de coupure des différents étages de cet appareil ne sont pas encore bien établis pour les débits autres

que 28,3 litres/min. En plus, les manipulations avec cet appareil sont fastidieuses et longues.

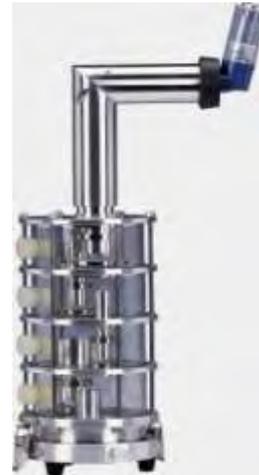
Afin de faciliter les contrôles quotidiens, l'impacteur à cascade en verre (l'appareil A – Pharmacopée Européenne) a été développé en simplifiant les étages de l'impacteur à cascade multi-étages (l'appareil C – Pharmacopée Européenne). Ayant seulement deux étages, l'appareil A permet d'apprécier rapidement la distribution granulométrique de l'aérosol, dont le diamètre de coupure est de 6,4 μm pour un débit de 60 l/min.³⁴³ La dose des particules fines est définie comme la quantité de principe actif détectée au deuxième étage. Bien que la limite de diamètre aérodynamique soit supérieure à 5 μm , la taille nécessaire pour arriver aux cibles des poumons, cet appareil est très utile dans les études de développement galénique et le contrôle quotidien. C'est pour cette raison que la Pharmacopée Européenne a retenu cet appareil dans la récente version.

Les appareils C et E (Next Generation Impactor) sont utilisés pour déterminer la distribution granulométrique des particules d'aérosol dans toutes les conditions avec ajustement du débit d'aspiration pour respecter la perte de charge de 4 kPa à travers de l'inhalateur. Les diamètres de coupure des différents étages de ces appareils peuvent être calculés à partir du débit appliqué à travers le système. Les manipulations avec l'appareil E sont simplifiées par rapport à l'impacteur à cascade Andersen. La possibilité de déterminer précisément la taille aérodynamique des particules aérosolisées à différents débits est un autre avantage de ces appareils au cours du développement des poudres pour inhalation³⁴⁴.

A la fin de l'essai, une détermination quantitative des différentes fractions de poudres, correspondant pour chacune d'elles à un étage, permet d'apprécier la distribution granulométrique de la poudre et la dose des particules fines. La masse interpolée de la substance active ayant la granulométrie inférieure à 5 μm est définie comme la dose des particules fines. La masse totale de substance active recueillie n'est pas inférieure à 75 % ni supérieure à 125 % de la valeur moyenne obtenue dans l'essai d'uniformité de la dose délivrée. Cette exigence ne concerne pas les performances de l'inhalateur, mais permet de s'assurer de la validité des résultats.



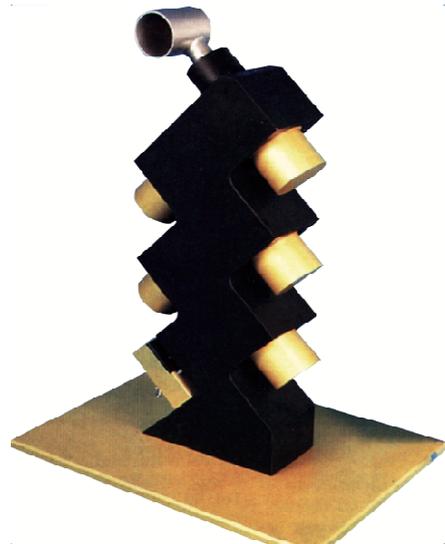
Appareil A. Impacteur à cascade en verre



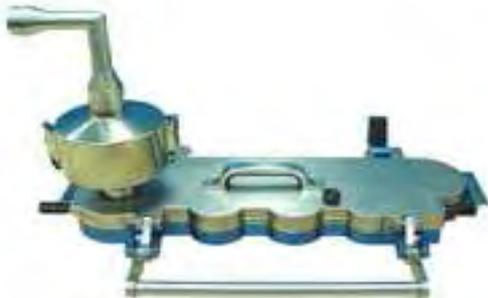
Appareil C. Impacteur à cascade Multi-étages



Appareil D. Impacteur à cascade Multi-étages



Appareil 2 USP. Impacteur à cascade de Marple – Miller



Appareil D. Impacteur à cascade Multi-étages

Figure A.34. Les impacteurs recommandés par les Pharmacopées pour déterminer la taille aérodynamique des poudres pour inhalation

Deux paramètres caractérisant la distribution granulométrique de l'aérosol sont calculés à partir des quantités recueillies aux étages : le diamètre aérodynamique de masse médian (MMAD pour Mass Median Aerodynamic Diameter) et la déviation géométrique standard (GSD pour Geometric Standard Deviation). Le calcul de MMAD est basé sur le tracé de la fraction cumulée de substance active en fonction du diamètre de coupure sur un papier logarithmique. La GSD est calculée par l'équation :

$$GSD = \sqrt{\frac{d_{84,1}}{d_{15,9}}}$$

Les résultats de l'évaluation de la performance aérodynamique sont fortement perturbés par les conditions climatiques. Dans le cas d'une substance active hygroscopique telle que le salbutamol et le sulfate de salbutamol, la dose des particules fines est diminuée pour les températures et les humidités relatives importantes. Par conséquent, il est nécessaire de définir les conditions de température et d'humidité relative pour les essais de détermination de la taille aérodynamique des poudres pour inhalation.³⁴⁵

6.4.2 L'assurance de qualité au cours du développement et de la fabrication des poudres pour inhalation

Pour assurer la sécurité et l'efficacité des médicaments destinés à la voie inhalée, les autorités de la santé ont publié des recommandations et des lignes directrices pour le développement et la fabrication de cette forme. Le FDA a commencé à établir les lignes directrices à partir de 1998 suivi ensuite par les autorités européennes à 2006. Les deux tableaux suivants indiquent les grandes lignes directrices de contrôle des inhalateurs à poudre sèche à la phase de développement et à la phase de fabrication.

Tableau A.7. Etudes recommandées dans la phase de développement des inhalateurs à poudre sèche selon³⁴⁶

Numéro	Étude recommandée	Explications
1	Caractérisations physico-chimiques	Les caractéristiques étudiées sont la solubilité, la taille, la forme, la densité, la rugosité, la cristallinité...du principe actif et/ou de l'excipient. Ces propriétés peuvent influencer l'homogénéité et la reproductibilité du produit fini. L'effet de prétraitement de matériau comme la micronisation pourrait être évalué.

Numéro	Étude recommandée	Explications
2.	Vérification du remplissage minimal	Cette étude a pour but d'assurer que la dose unitaire finale de l'utilisation (mentionnée sur l'étiquette) répond toujours aux spécifications du produit, spécialement la dose délivrée et la dose des particules fines.
3	Uniformité de la dose délivrée et la dose des particules fines à travers la vie de l'inhalateur	Cette étude a pour but d'assurer la consistance de la qualité de produit, spécialement l'homogénéité de la dose émise et la dose des particules fines, tout au long de la vie de l'inhalateur dans les conditions d'utilisation, de stockage et de nettoyage mentionnées dans l'étiquette. Au moins deux lots, trois inhalateurs sur chaque lot sont étudiés.
4	Uniformité de la dose délivrée et la dose des particules fines sur la plage de débit inspiratoire du patient	Cette étude a pour but d'assurer la consistance de la qualité de produit, spécialement la dose délivrée minimale et la dose des particules fines, sur la plage possible de débit inspiratoire des patients ciblés, à volume d'inhalation constant.
5	La quantité des particules fines de la dose unitaire	Selon les spécifications du produit fini.
6	Distribution de la taille des particules	Cette étude est réalisée en utilisant les impacteurs à cascade pour déterminer le diamètre aérodynamique de masse médian et la déviation géométrique standard.
7	Dépôt à l'embout d'inhalation ou à l'actuateur	
8	Exigences de nettoyage	La qualité de produit au cours d'utilisation doit supporter les exigences de nettoyage mentionnées dans l'étiquette. L'uniformité de la dose délivrée et la dose des particules fines (ou la distribution de taille des particules) sont déterminées suivant les conditions d'utilisations normales.
9	Effets de l'humidité	L'effet de l'humidité sur la qualité et la performance du produit doivent être étudié

Numéro	Étude recommandée	Explications
	environnementale	pendant la phase de développement.
10	Robustesse	La performance du produit doit être assurée dans les conditions d'utilisation normales et extrêmes (vibration, chute de l'inhalateur,...)
11	Étude de développement de l'inhalateur	Le développement de l'inhalateur doit être décrit : les influences de la conception, des matériaux utilisés, du procédé de fabrication...sur la performance du produit doivent être démontrées.

Tableau A.8. Spécifications des inhalateurs à poudre sèche selon ³⁴⁶

Numéro	Étude recommandée	Explications
1	Description	
2.	Dosage	Pour les inhalateurs de type réservoir, la teneur en principe actif peut être exprimée par l'unité de masse ou de volume. Pour les inhalateurs à doses unitaires, la teneur en principe actif peut être exprimé par dose. Cette spécification suit les limites des produits médicamenteux.
3	Teneur en eau	La limite de teneur en eau peut être établie selon l'étude de stabilité.
4	Dose délivrée moyenne	La dose émise moyenne doit être dans la limite de +/- 15% de la dose émise mentionnée sur l'étiquette.
5	Uniformité de la dose délivrée	La spécification de l'uniformité de la dose délivrée doit respecter les recommandations de la pharmacopée. Cette étude doit être réalisée sur un inhalateur et sur différents inhalateurs pour déterminer la variation intra et inter - inhalateur.
6	Dose des particules fines	La dose des particules fines est déterminée par les appareillages appropriés. Cette dose correspond à la quantité de principe actif inférieure à 5 µm. Le diamètre aérodynamique

Numéro	Étude recommandée	Explications
		de masse médiane (MMAD) et la déviation géométrique standard (GSD) peuvent être déterminées pour mieux caractériser le produit.
7	Limites microbiologiques	Ce test est réalisé sous les conditions recommandées par la pharmacopée.
8	Nombre de décharges par inhalateur	Le nombre total de doses délivrées n'est pas inférieur à la valeur indiquée sur l'étiquette (cet essai peut être combiné à l'essai d'uniformité de la dose délivrée)

Certaines spécifications différentes sont recommandées par les autorités de santé des différents pays. Le FDA insiste sur les tests qui ne figurent pas dans les lignes directrices européennes tels que :

- la stabilité du produit dans les articles de conditionnements primaires (capsules, alvéoles en aluminium)
- la détermination des conditions appropriées pour le stockage
- la résistance de l'inhalateur au flux d'air et l'accumulation de dose
- l'effet de l'usage par le patient sur la performance du produit.
- l'effet de conditions de stockage sur la distribution granulométrique de poudre dans les systèmes à doses pré-conditionnées.
- la compatibilité chimique avec les composants de l'inhalateur
- les impuretés et les produits de dégradation (Les lignes directrices européennes ont conseillé l'utilisation des recommandations de ICH).
- pour les produits à différents dosages, la proportionnalité des doses in vitro doit être étudiée.
- l'évaluation microscopique et la présence des particules étrangères.
- la photostabilité.

Bien que le processus d'harmonisation soit renforcé dans les dernières années, ces différences rendent l'étude de développement de poudre pour inhalation complexe pour le commercialiser dans différents pays. Par ailleurs, les mécanismes impliqués dans le procédé de fabrication de poudre pour inhalation ne sont pas bien clarifiés. En conséquence, les recommandations réglementaires sont encore évolutives.

OBJECTIFS DU TRAVAIL

L'objectif général de la thèse est de caractériser les propriétés physicochimiques du transporteur et du principe actif afin de trouver les propriétés critiques qui influencent la performance aérodynamique de leur mélange pour inhalation. Les propriétés à examiner sont d'ordre chimique, particulaire et concernent également les propriétés de l'ensemble du lit de poudre. L'adhésion principe actif - transporteur est également étudiée par une méthode développée au sein de l'équipe qui permet de quantifier les influences de différents facteurs sur les interactions particulières et ainsi sur la qualité du mélange. Ces études aident à mieux comprendre les mécanismes d'interaction inter-particulaire et ceux des interactions entre la poudre et l'air lors d'une inhalation. L'objectif final est de pouvoir concevoir des poudres pour inhalation pour lesquelles la fraction des particules fines est mieux maîtrisée c'est-à-dire avec des spécifications plus élevées, plus répétable et plus étroites.

Dans un premier temps, les conditions opératoires conditionnant la qualité du mélange sont établies pour mieux étudier les propriétés de la poudre qui sont souvent interdépendantes. Ensuite, différentes propriétés chimiques, particulières et inter-particulières du transporteur et du principe actif sont examinées par les méthodes disponibles : l'analyse de structure cristalline – amorphe - polymorphique, l'analyse granulométrique, la surface spécifique, l'énergie de surface, l'analyse rhéologique des poudres... Les propriétés de l'ensemble des particules sont particulièrement intéressantes car elles sont plus représentatives de l'interaction inter-particulaire dans la totalité du mélange de poudre. D'un point de vue pratique, une technique rapide pour évaluer la qualité et la performance du mélange pour inhalation est nécessaire lors du développement galénique. Les différents tests développés dans ce travail pourraient être utilisés. Les caractéristiques physicochimiques du principe actif doivent être maîtrisées et spécifiées pour obtenir une administration efficace et reproductible. Enfin, l'interaction entre le fluide d'air et la poudre sera étudiée à l'aide de nouveaux outils comme le rhéomètre de poudre avec module d'aération afin de mieux comprendre le phénomène d'aérosolisation de la poudre.

REFERENCES

1. Young, P.M., Traini, D. & Stephen, E. Advances in Pulmonary Therapy. *Advanced drug formulation design to optimize therapeutic outcomes* (2008).
2. Hickey, A.J. & Mansour, H.M. Delivery of Drugs by the Pulmonary Route. *Modern pharmaceuticals II*, (2009).
3. Kassem, N.M. & Ganderton, D. Dry Powder Inhalers. *Advances in Pharmaceutical Sciences* **6**, 165-191 (1992).
4. Steckel, H. & Müller, B.W. In vitro evaluation of dry powder inhalers I: drug deposition of commonly used devices. *International Journal of Pharmaceutics* **154**, 19-29 (1997).
5. Martin, G.P., Onyechi, J.O. & Marriott, C. Future prospects for pulmonary delivery of drugs. *S.T.P Pharma Sciences* **4**, 5-10 (1994).
6. Wong, W. et al. Particle aerosolisation and break-up in dry powder inhalers: Evaluation and modelling of impaction effects for agglomerated systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences* doi:10.1002/jps.22503
7. Rau, J.L. The inhalation of drugs: advantages and problems. *Respir Care* **50**, 367-382 (2005).
8. Gandevia, B. Historical review of the use of parasympatholytic agents in the treatment of respiratory disorders. *Postgrad Med J* **51**, 13-20 (1975).
9. Pariente, L. *Naissance et évolution de quinze formes pharmaceutiques*. (Editions Louis Pariente: Paris, 1996).
10. Sanders, M. Inhalation therapy: an historical review. *Prim Care Respir J* **16**, 71 (2007).
11. Loeper, M. & Bory, D.L. *Journées thérapeutiques de Paris 1946*. (G. DOIN & Cie: Paris, 1946).
12. Crompton, G. A brief history of inhaled asthma therapy over the last fifty years. *Prim Care Respir J* **15**, 326-331 (2006).
13. Keller, M. Innovations and perspectives of metered dose inhalers in pulmonary drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **186**, 81-90 (1999).
14. Bell, J.H., Hartley, P.S. & Cox, J.S. Dry powder aerosols. I. A new powder inhalation device. *J Pharm Sci* **60**, 1559-1564 (1971).
15. Degobert, G. Dispositif d'administration pulmonaire. *Nouvelles formes médicamenteuses* (2004).
16. Anderson, P.J. Delivery Options and Devices for Aerosolized Therapeutics*. *Chest* **120**, 89S - 93S (2001).
17. Hickey, A.J. & Mansour, H.M. Delivery of Drugs by Pulmonary Route. *Modern pharmaceuticals 2 Applications and Advances*, 191-219 (2009).
18. Uchenna Agu, R., Ikechukwu Ugwoke, M., Armand, M., Kinget, R. & Verbeke, N. The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. *Respir Res* **2**, 198-209 (2001).
19. J.-M. M. L'insuline inhalée retirée du marché américain. *Revue Francophone des Laboratoires* **399**, 10 (2008).
20. Giosue, S. et al. Minimal dose of aerosolized interferon-alpha in human subjects: biological consequences and side-effects. *European Respiratory Journal* **9**, 42 -46 (1996).
21. Muttill, P., Wang, C. & Hickey, A.J. Inhaled Drug Delivery for Tuberculosis Therapy. *Pharm Res* **26**, 2401-2416 (2009).
22. Sandeau, J. Modélisation physique et résolution numérique du transport et du dépôt des particules d'aérosols médicaments dans les voies respiratoires extrathoraciques humaines. (2009).
23. Sapoval, B. *Physique de la respiration*. (Laboratoire de Physique de la Matière condensée, Ecole Polytechnique: 2004).

24. Aiache, J.-M., Devissaguet, J.-P., Guyot-Hermann, A.-M. & Association française des enseignants de pharmacie galénique *Biopharmacie*. (Technique et Documentation: Paris, 1982).
25. Zeng, X.M., Martin, G.P., Tee, S.-K. & Marriott, C. The role of fine particle lactose on the dispersion and deaggregation of salbutamol sulphate in an air stream in vitro. *International Journal of Pharmaceutics* **176**, 99-110 (1998).
26. Wong, L.W., Kassem, N.M. & Ganderton, D. The effect of the shape of fine particles on the inhalation properties of the powder mixtures. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **41**, 24P (1989).
27. Bisgaard, H., Hayder, J. & Svartengren, M.U. Basic Principles of Particle Behavior in the Human Respiratory Tract. *Drug delivery to the lung* (2002).
28. Frijlink, H.W. & De Boer, A.H. Dry powder inhalers for pulmonary drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* **1**, 67-86 (2004).
29. Aiache, J.M. & Vandamme, T. Préparations pour inhalation. *Pharmacie galénique. Formulation et technologie pharmaceutique* (2007).
30. Carvalho, T.C., Peters, J.I. & Williams III, R.O. Influence of particle size on regional lung deposition - What evidence is there? *International Journal of Pharmaceutics* **406**, 1-10 (2011).
31. Moller, W., Kreyling, W.G., Schmid, O. & Schulz, H. Deposition, Retention and Clearance, and Translocation of Inhaled Fine and Nano-Sized Particles in the Respiratory Tract. *Particle-lung interactions* (2010).
32. Bhat, M., Wolff, R.K., Rojanasakul, Y. & Ma, J.K.H. Drug Metabolism and Enzyme Kinetics in the Lung. *Inhalation aerosols : physical and biological basis for therapy* (2007).
33. Barnes, P.J. Distribution of Receptor Targets in the Lung. *Proc Am Thorac Soc* **1**, 345-351 (2004).
34. Leyshon, J. View of an Asthma Nurse Using Current DPIs - Patient Experiences. (2011).
35. NEWMAN, S.P. & BUSSE, W.W. Evolution of dry powder inhaler design, formulation, and performance. *Respiratory Medicine* **96**, 293-304 (2002).
36. Voss, A. & Finlay, W.H. Deagglomeration of dry powder pharmaceutical aerosols. *International Journal of Pharmaceutics* **248**, 39-50 (2002).
37. Dunbar, C., Holzner, P. & Hickey, A.J. Dispersion and Characterization of Pharmaceutical Dry Powder Aerosols. *Kona* 7-45 (1998).
38. Crowder, T.M. Vibration Technology for Active Dry-Powder Inhalers. *Pharmaceutical Technology* **28**, 52-58 (2004).
39. de Boer, A.H. et al. Air classifier technology (ACT) in dry powder inhalation Part 2. The effect of lactose carrier surface properties on the drug-to-carrier interaction in adhesive mixtures for inhalation. *International Journal of Pharmaceutics* **260**, 201-216 (2003).
40. Islam, N. & Gladki, E. Dry powder inhalers (DPIs)--A review of device reliability and innovation. *International Journal of Pharmaceutics* **360**, 1-11 (2008).
41. Selvam, P., McNair, D., Truman, R. & Smyth, H.D.C. A novel dry powder inhaler: Effect of device design on dispersion performance. *International Journal of Pharmaceutics* **401**, 1-6 (2010).
42. Srichana, T., Martin, G.P. & Marriott, C. Dry powder inhalers: The influence of device resistance and powder formulation on drug and lactose deposition in vitro. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **7**, 73-80 (1998).
43. de Boer, A.H., Winter, H.M.I. & Lerk, C.F. Inhalation characteristics and their effects on in vitro drug delivery from dry powder inhalers Part 1. Inhalation characteristics, work of breathing and volunteers' preference in dependence of the inhaler resistance. *International Journal of Pharmaceutics* **130**, 231-244 (1996).
44. Quinet, P., Young, C.A. & Héritier, F. The use of dry powder inhaler devices by elderly patients suffering from chronic obstructive pulmonary disease. *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* **53**, 69-76 (2010).

45. Son, Y.-J. & McConville, J.T. Advancements in Dry Powder Delivery to the Lung. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **34**, 948-959 (2008).
46. Campen, Lynn V. & Venthoye, G. Inhalation, Dry Powder. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* **20 - Suppl 3**, 93-115 (2001).
47. Byron, P.R. Some future perspectives for Unit dose Inhalation Aerosol. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **12**, 993-1015 (1986).
48. Smith, I.J. & Parry-Billings, M. The inhalers of the future? A review of dry powder devices on the market today. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* **16**, 79-95 (2003).
49. Timsina, M.P., Martin, G.P., Marriott, C. & Ganderton, D. Drug delivery to the respiratory tract using dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **101**, 1-13 (1994).
50. Dubus, J.-C. & Bosdure, E. Dernières avancées concernant les dispositifs d'inhalation. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique* **46**, 38-40 (2006).
51. Howlett, D. DPI Opportunities and Challenges in Emerging Markets. (2011).
52. Bisgaard, H., Borgstrom, L., O'Callaghan, C. & Pedersen, S. Dry Powder Inhalers. *Drug delivery to the lung* **162**, 421-445 (2002).
53. Han, R., Papadopoulos, G. & Greenspan, B.J. Investigation of powder dispersion inside a SPIROS® dry powder inhaler using particle image velocimetry. *Powder Technology* **125**, 266-278 (2002).
54. Wetterlin, K. Turbuhaler: A New Powder Inhaler for Administration of Drugs to the Airways. *Pharmaceutical Research* **5**, 506-508 (1988).
55. Tuley, R. et al. Experimental observations of dry powder inhaler dose fluidisation. *International Journal of Pharmaceutics* **358**, 238-247 (2008).
56. Zeng, X.M., Martin, G.P. & Marriott, C. *Particulate interactions in dry powder formulations for inhalation*. (Taylor & Francis: London, 2001).
57. Rumpf, H. *Particle technology*. (Taylor & Francis: 1990).
58. Li, Q., Rudolph, V. & Peukert, W. London-van der Waals adhesiveness of rough particles. *Powder Technology* **161**, 248-255 (2006).
59. Butt, H.-jürgen & Kappl, M. *Surface and interfacial forces*. (Wiley-VCH: Weinheim, 2010).
60. Staniforth, J.N. Relationship between particle packing and the physical stability of powder mixes. *J. Pharm. Pharmacol* **37**, 692-697 (1985).
61. Zeng, X.M., Martin, G.P. & Marriott, C. *Particulate interactions in dry powder formulations for inhalation*. (Taylor & Francis: London, 2001).
62. Staniforth, J.N. British Pharmaceutical Conference Science Award lecture 1986. Order out of chaos. *J. Pharm. Pharmacol* **39**, 329-334 (1987).
63. Seville, J.P.K., Willett, C.D. & Knight, P.C. Interparticle forces in fluidisation: a review. *Powder Technology* **113**, 261-268 (2000).
64. Hersey, J.A. Ordered mixing: A new concept in powder mixing practice. *Powder Technology* **11**, 41-44 (1975).
65. Cartilier, L.H. & Moës, A.J. Effect of Drug Agglomerates Upon the Kinetics of Mixing of Low Dosage Cohesive Powder Mixtures. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **15**, 1911-1931 (1989).
66. De Villiers, M.M. & van der Watt, J.G. Interactive mixing between agglomerated drug particles and coarse carrier particles. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **15**, 2055-2061 (1989).
67. de Villiers, M.M. Influence of agglomeration of cohesive particles on the dissolution behaviour of furosemide powder. *International Journal of Pharmaceutics* **136**, 175-179 (1996).
68. Lachiver, E.D., Abatzoglou, N., Cartilier, L. & Simard, J.-S. Agglomeration tendency in dry pharmaceutical granular systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **64**, 193-199 (2006).
69. Adi, H. et al. Role of agglomeration in the dispersion of salmeterol xinafoate from mixtures for inhalation with differing drug to fine lactose ratios. *J Pharm Sci* **97**, 3140-3152 (2008).
70. Staniforth, J.N. Total Mixing. *Int. J. Pharm. Tech. & Prod. Mafr.* **2**, 7-12 (1981).

71. Yang, R., Zou, R., Yu, A. & Choi, S. Characterization of interparticle forces in the packing of cohesive fine particles. *Phys. Rev. E* **78**, (2008).
72. Forsyth, A., Hutton, S., Osborne, C. & Rhodes, M. Effects of Interparticle Force on the Packing of Spherical Granular Material. *Phys. Rev. Lett.* **87**, (2001).
73. Dong, K., Yang, R., Zou, R. & Yu, A. Role of Interparticle Forces in the Formation of Random Loose Packing. *Phys. Rev. Lett.* **96**, (2006).
74. Gradon, L. Resuspension of particles from surfaces: Technological, environmental and pharmaceutical aspects. *Advanced Powder Technology* **20**, 17-28 (2009).
75. Grzybowski, K. & Gradon, L. Re-entrainment of particles from powder structures: experimental investigations. *Advanced Powder Technology* **18**, 427-439 (2007).
76. Fatah, N. *Étude des poudres cohésives fluidisation et simulation numérique*. ([s.n.]: [S.l.], 2005).
77. Wang, Z., Kwauk, M. & Li, H. Fluidization of fine particles. *Chemical Engineering Science* **53**, 377-395 (1998).
78. Valverde, J.M. & Castellanos, A. Types of gas fluidization of cohesive granular materials. *Phys. Rev. E* **75**, 031306 (2007).
79. Zhu, J. Fluidization of Fine Powders. *Granular Materials. Fundamentals and Applications* 270-295 (2004).
80. Castellanos, A., Valverde, J.M., Pérez, A.T., Ramos, A. & Watson, P.K. Flow Regimes in Fine Cohesive Powders. *Phys. Rev. Lett.* **82**, 1156 (1999).
81. Crowder, T. & Hickey, A. Powder specific active dispersion for generation of pharmaceutical aerosols. *International Journal of Pharmaceutics* **327**, 65-72 (2006).
82. Louey, M.D., Van Oort, M. & Hickey, A.J. Standardized entrainment tubes for the evaluation of pharmaceutical dry powder dispersion. *Journal of Aerosol Science* **37**, 1520-1531 (2006).
83. Shur, J., Harris, H., Jones, M.D., Kaerger, J.S. & Price, R. The Role of Fines in the Modification of the Fluidization and Dispersion Mechanism Within Dry Powder Inhaler Formulations. *Pharm Res* **25**, 1631-1640 (2008).
84. Freeman, T. & Price, R. Dynamic Powder Characterisation for DPI formulations. *Drug Delivery Technology* 50-55 (2009).
85. Ma, X. & Kato, K. Effect of interparticle adhesion forces on elutriation of fine powders from a fluidized bed of a binary particle mixture. *Powder Technology* **95**, 93-101 (1998).
86. Kendall, K. & Stainton, C. Adhesion and aggregation of fine particles. *Powder Technology* **121**, 223-229 (2001).
87. Kendall, K. Adhesion: Molecules and Mechanics. *Science* **263**, 1720-1725 (1994).
88. Weiler, C., Wolkenhauer, M., Trunk, M. & Langguth, P. New model describing the total dispersion of dry powder agglomerates. *Powder Technology* **203**, 248-253 (2010).
89. Yuu, S. & Ohtani, Y. Particle motion in fluid. *Powder technology handbook*. (2006).
90. Calvert, G., Ghadiri, M. & Tweedie, R. Aerodynamic dispersion of cohesive powders: A review of understanding and technology. *Advanced Powder Technology* **20**, 4-16 (2009).
91. Mansour, H.M., Xu, Z. & Hickey, A.J. Dry powder aerosols generated by standardized entrainment tubes from alternative sugar blends: 3. Trehalose dihydrate and D-mannitol carriers. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **99**, 3430-3441 (2010).
92. Xu, Z. et al. Dry powder aerosols generated by standardized entrainment tubes from drug blends with lactose monohydrate: 1. Albuterol sulfate and disodium cromoglycate. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **99**, 3398-3414 (2010).
93. Xu, Z. et al. Dry powder aerosols generated by standardized entrainment tubes from drug blends with lactose monohydrate: 2. Ipratropium bromide monohydrate and fluticasone propionate. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **99**, 3415-3429 (2010).
94. Xu, Z., Mansour, H.M. & Hickey, A.J. Particle Interactions in Dry Powder Inhaler Unit Processes: A Review. *J Adhes Sci Technol* **25**, 451-482 (2011).
95. Brittain, H.G. *Physical characterization of pharmaceutical solids*. (M. Dekker: 1995).

96. Ritchie, T.J., Luscombe, C.N. & Macdonald, S.J.F. Analysis of the Calculated Physicochemical Properties of Respiratory Drugs: Can We Design for Inhaled Drugs Yet? *Journal of Chemical Information and Modeling* **49**, 1025-1032 (2009).
97. Devillier, P., Tillie-Leblond, I. & Tonnel, A.-B. *Les corticoïdes inhalés dans l'asthme - Certitudes et doutes*. (Phase 5 - Editions Médicales: Paris, 2005).
98. Podczeczek, F., Newton, J.M. & James, M.B. The adhesion strength of particles of salmeterol base and a series of salmeterol salts to compacted lactose monohydrate surfaces. *Journal of Adhesion Science and Technology* **9**, 1547-1558 (1995).
99. Jashnani, R.N. & Byron, P.R. Dry powder aerosol generation in different environments: Performance comparisons of albuterol, albuterol sulfate, albuterol adipate and albuterol stearate. *International Journal of Pharmaceutics* **130**, 13-24 (1996).
100. Harris, H., Shur, J., Clarke, M.J., French, E. & Price, R. Rapid Pre-formulation Screening of Drug Salts for Dry Powder Inhalers. *Drug Delivery to the Lungs* **19** (2008).
101. Hussain, M.A., Franchini, M. & Badaway, S.I. Salt Selection for Pharmaceutical Compounds. *Preformulation in Solid Dosage Form Development* **178**, (2008).
102. Rowe, R. & American Pharmacists Association. *Handbook of pharmaceutical excipients*. (Pharmaceutical Press ;;American Pharmacists Association: London ;;Chicago ;Washington DC, 2009).
103. Young, P.M. et al. Influence of Humidity on the Electrostatic Charge and Aerosol Performance of Dry Powder Inhaler Carrier based Systems. *Pharm Res* **24**, 963-970 (2007).
104. Saint-Lorant, G., Leterme, P., Gayot, A. & Flament, M.P. Influence of carrier on the performance of dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **334**, 85-91 (2007).
105. Tee, S.K., Marriott, C., Zeng, X.M. & Martin, G.P. The use of different sugars as fine and coarse carriers for aerosolised salbutamol sulphate. *International Journal of Pharmaceutics* **208**, 111-123 (2000).
106. Steckel, H. & Bolzen, N. Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations. *International Journal of Pharmaceutics* **270**, 297-306 (2004).
107. Naini, V., Byron, P.R. & Phillips, E.M. Physicochemical Stability of Crystalline Sugars and Their Spray-Dried Forms: Dependence upon Relative Humidity and Suitability for Use in Powder Inhalers. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **24**, 895-909 (1998).
108. Anderson, S.D. & Brannan, J.D. Bronchial provocation testing: the future. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* **11**, 46-52 (2011).
109. Sanna, V. et al. Preparation and in vivo toxicity study of solid lipid microparticles as carrier for pulmonary administration. *AAPS PharmSciTech* **5**, 17-23 (2004).
110. Elamin, A.A., Sebhatu, T. & Ahlneck, C. The use of amorphous model substances to study mechanically activated materials in the solid state. *International Journal of Pharmaceutics* **119**, 25-36 (1995).
111. Ward, G.H. & Schultz, R.K. Process-induced crystallinity changes in albuterol sulfate and its effect on powder physical stability. *Pharm. Res* **12**, 773-779 (1995).
112. Shariare, M.H., de Matas, M., York, P. & Shao, Q. The impact of material attributes and process parameters on the micronisation of lactose monohydrate. *International Journal of Pharmaceutics* **In Press, Corrected Proof**,
113. Bridson, R.H. et al. The effects of high shear blending on [alpha]-lactose monohydrate. *International Journal of Pharmaceutics* **339**, 84-90 (2007).
114. Brodka-Pfeiffer, K., Langguth, P., Gra[beta], P. & Häusler, H. Influence of mechanical activation on the physical stability of salbutamol sulphate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **56**, 393-400 (2003).
115. Hilden, L.R. & Morris, K.R. Physics of amorphous solids. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **93**, 3-12 (2004).
116. Bolhuis, G.K. & Chowhan, Z.T. Materials for Direct Compaction. *Pharmaceutical powder compaction technology* (1996).

117. Rabinowitz, J.D. et al. Ultra-fast absorption of amorphous pure drug aerosols via deep lung inhalation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **95**, 2438-2451 (2006).
118. Hancock, B.C. & Zografi, G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **86**, 1-12 (1997).
119. Price, R. & Young, P.M. On the physical transformations of processed pharmaceutical solids. *Micron* **36**, 519-524 (2005).
120. Shah, B., Kakumanu, V.K. & Bansal, A.K. Analytical techniques for quantification of amorphous/crystalline phases in pharmaceutical solids. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **95**, 1641-1665 (2006).
121. Vollenbroek, J., Hebbink, G.A., Ziffels, S. & Steckel, H. Determination of low levels of amorphous content in inhalation grade lactose by moisture sorption isotherms. *International Journal of Pharmaceutics* **395**, 62-70 (2010).
122. Buckton, G., Darcy, P., Greenleaf, D. & Holbrook, P. The use of isothermal microcalorimetry in the study of changes in crystallinity of spray-dried salbutamol sulphate. *International Journal of Pharmaceutics* **116**, 113-118 (1995).
123. Louey, M.D., Mulvaney, P. & Stewart, P.J. Characterisation of adhesional properties of lactose carriers using atomic force microscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **25**, 559-567 (2001).
124. Harjunen, P. et al. Lactose modifications enhance its drug performance in the novel multiple dose Taifun® DPI. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **16**, 313-321 (2002).
125. D. Ticehurst, M. et al. Characterisation of the influence of micronisation on the crystallinity and physical stability of revatropate hydrobromide. *International Journal of Pharmaceutics* **193**, 247-259 (2000).
126. Gilani, K., Najafabadi, A.R., Barghi, M. & Rafiee-Tehrani, M. The effect of water to ethanol feed ratio on physical properties and aerosolization behavior of spray dried cromolyn sodium particles. *J Pharm Sci* **94**, 1048-1059 (2005).
127. Thi, T.H.H., Danède, F., Descamps, M. & Flament, M.-P. Comparison of physical and inhalation properties of spray-dried and micronized terbutaline sulphate. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **70**, 380-388 (2008).
128. Vidgrén, M.T., Vidgrén, P.A. & Paronen, T.P. Comparison of physical and inhalation properties of spray-dried and mechanically micronized disodium cromoglycate. *International Journal of Pharmaceutics* **35**, 139-144 (1987).
129. Dhumal, R.S., Biradar, S.V., Paradkar, A.R. & York, P. Particle engineering using sonocrystallization: Salbutamol sulphate for pulmonary delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **368**, 129-137 (2009).
130. Muhammad, S.A.F.S. et al. A novel method for the production of crystalline micronised particles. *International Journal of Pharmaceutics* **388**, 114-122 (2010).
131. Brittain, H.G. Polymorphism and solvatomorphism 2009. *J. Pharm. Sci.* **100**, 1260-1279 (2011).
132. Brittain, H.G. Preparation and Identification of Polymorphs and Solvatomorphs. *Preformulation in Solid Dosage Form Development* **178**, (2008).
133. Chieng, N., Rades, T. & Aaltonen, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **55**, 618-644 (2011).
134. Cartilier, L.H. & Moës, A.J. Influence du type de lactose sur l'homogénéité de mélanges de poudres à principe actif cohésif et faiblement dosé. *S.T.P Pharma Sciences* **5**, 152-159 (1989).
135. Edge, S., Mueller, S., Price, R. & Shur, J. Factors Affecting Defining the Quality and Functionality of Excipients Used in the Manufacture of Dry Powder Inhaler Products. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **34**, 966-973 (2008).
136. Steckel, H., Markefka, P., teWierik, H. & Kammelmar, R. Effect of milling and sieving on functionality of dry powder inhalation products. *International Journal of Pharmaceutics* **309**, 51-59 (2006).

137. Traini, D., Young, P.M., Thielmann, F. & Acharya, M. The Influence of Lactose Pseudopolymorphic Form on Salbutamol Sulfate-Lactose Interactions in DPI Formulations. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **34**, 992-1001 (2008).
138. Pitchayajittipong, C., Price, R., Shur, J., Kaerger, J.S. & Edge, S. Characterisation and functionality of inhalation anhydrous lactose. *International Journal of Pharmaceutics* **390**, 134-141 (2010).
139. Bronlund, J. & Paterson, T. Moisture sorption isotherms for crystalline, amorphous and predominantly crystalline lactose powders. *International Dairy Journal* **14**, 247-254 (2004).
140. Song, M. & de Villiers, M.M. Effect of a change in crystal polymorph on the degree of adhesion between micronized drug particles and large homogenous carrier particles during an interactive mixing process. *Pharm Dev Technol* **9**, 387-398 (2004).
141. Staniforth, J.N. & Teresa, M.C. Polymorphism and dispersibility of dry powders. *Respiratory Drug Delivery VI* 283-284 (1998).
142. Murnane, D., Marriott, C. & Martin, G.P. Polymorphic control of inhalation microparticles prepared by crystallization. *International Journal of Pharmaceutics* **361**, 141-149 (2008).
143. Hooton, J.C., Jones, M.D., Harris, H., Shur, J. & Price, R. The Influence of Crystal Habit on the Prediction of Dry Powder Inhalation Formulation Performance Using the Cohesive-Adhesive Force Balance Approach. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **34**, 974-983 (2008).
144. Ikegami, K. et al. Improved inhalation behavior of steroid KSR-592 in vitro with Jethaler by polymorphic transformation to needle-like crystals (beta-form). *Pharm. Res* **19**, 1439-1445 (2002).
145. Volonte, R., Diulgheroff, N., Scarpitta, F., Pontiroli, A. & Casalone, R. Pure and stable tiotropium bromide. 41 (2007).
146. Stubberud, L., Arwidsson, H.G. & Graffner, C. Water-solid interactions: I. A technique for studying moisture sorption/desorption. *International Journal of Pharmaceutics* **114**, 55-64 (1995).
147. Komunjer, L. & Pezron, I. A new experimental method for determination of solubility and hyper-solubility of hygroscopic solid. *Powder Technology* **190**, 75-78 (2009).
148. Coelho, M.C. & Harnby, N. Moisture bonding in powders. *Powder Technology* **20**, 201-205 (1978).
149. Young, P.M., Price, R., Tobby, M.J., Buttrum, M. & Dey, F. Effect of Humidity on Aerosolization of Micronized Drugs. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **29**, 959-966 (2003).
150. Young, P.M. & Price, R. The influence of humidity on the aerosolisation of micronised and SEDS produced salbutamol sulphate. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **22**, 235-240 (2004).
151. Price, R., Young, P.M., Edge, S. & Staniforth, J.N. The influence of relative humidity on particulate interactions in carrier-based dry powder inhaler formulations. *International Journal of Pharmaceutics* **246**, 47-59 (2002).
152. Coelho, M.C. & Harnby, N. The effect of humidity on the form of water retention in a powder. *Powder Technology* **20**, 197-200 (1978).
153. Bronlund, J.E. & Tony Paterson, (AHJ) Mathematical modelling of temperature induced moisture migration in bulk powders. *Chemical Engineering Science* **63**, 2330-2340 (2008).
154. Bérard, V. et al. Dry powder inhaler: influence of humidity on topology and adhesion studied by AFM. *International Journal of Pharmaceutics* **232**, 213-224 (2002).
155. Das, S., Larson, I., Young, P. & Stewart, P. Agglomerate properties and dispersibility changes of salmeterol xinafoate from powders for inhalation after storage at high relative humidity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **37**, 442-450 (2009).
156. Padmadasastra, Y., Kennedy, R.A. & Stewart, P.J. Influence of carrier moisture adsorption capacity on the degree of adhesion of interactive mixtures. *International Journal of Pharmaceutics* **104**, R1-R4 (1994).

157. Rowley, G. & Mackin, L.A. The effect of moisture sorption on electrostatic charging of selected pharmaceutical excipient powders. *Powder Technology* **135-136**, 50-58 (2003).
158. Christie, J.H., Krenek, S.H. & Woodhead, I.M. The electrical properties of hygroscopic solids. *Biosystems Engineering* **102**, 143-152 (2009).
159. Harnby, N. The mixing of cohesive powders. *Mixing in the Process Industries* 79-98 (1997).
160. Delacourte, A., Devise, B., Merle, C. & Guyot, J.C. Facteurs influençant la rhéologie des poudres. *Formes orales solides I. Poudres et formes unitaires obtenues par division ou agglutination I*, 371 (1984).
161. Staniforth, J.N. Performance-Modifying Influences in Dry Powder Inhalation Systems. *Aerosol Science and Technology* **22**, 346-353 (1995).
162. Kaye, B.H. *Characterization of Powders and Aerosols*. (Wiley-VCH: 1999).
163. Tsubaki, J. Particle size. *Powder Technology: Fundamentals of Particles, Powder Beds, and Particle Generation* (2006).
164. Rhodes, M.J. *Introduction to particle technology*. (John Wiley and Sons: 2008).
165. Adi, H., Larson, I. & Stewart, P. Laser diffraction particle sizing of cohesive lactose powders. *Powder Technology* **179**, 90-94 (2007).
166. Rees, P.J., Clark, T.J. & Morén, F. The importance of particle size in response to inhaled bronchodilators. *Eur J Respir Dis Suppl* **119**, 73-78 (1982).
167. Persson, G. & Wiren, J. The bronchodilator response from inhaled terbutaline is influenced by the mass of small particles: a study on a dry powder inhaler (Turbuhaler). *European Respiratory Journal* **2**, 253-256 (1989).
168. Louey, M.D. Aerosol Dispersion of Respirable Particles in Narrow Size Distributions Produced by Jet-Milling and Spray-Drying Techniques. *Pharm Res* **21**, 1200-1206 (2004).
169. Islam, N., Stewart, P., Larson, I. & Hartley, P. Effect of carrier size on the dispersion of salmeterol xinafoate from interactive mixtures. *J. Pharm. Sci.* **93**, 1030-1038 (2004).
170. Steckel, H. & Müller, B.W. In vitro evaluation of dry powder inhalers II: influence of carrier particle size and concentration on in vitro deposition. *International Journal of Pharmaceutics* **154**, 31-37 (1997).
171. Dickhoff, B.H.J., de Boer, A.H., Lambregts, D. & Frijlink, H.W. The effect of carrier surface and bulk properties on drug particle detachment from crystalline lactose carrier particles during inhalation, as function of carrier payload and mixing time. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **56**, 291-302 (2003).
172. Staniforth, J.N. The Science of Formulation of Powders for Inhalation. 23-32 (1996).
173. Guenette, E. et al. Understanding the effect of lactose particle size on the properties of DPI formulations using experimental design. *International Journal of Pharmaceutics* **380**, 80-88 (2009).
174. Zeng, X.M., Pandhal, K.H. & Martin, G.P. The influence of lactose carrier on the content homogeneity and dispersibility of beclomethasone dipropionate from dry powder aerosols. *International Journal of Pharmaceutics* **197**, 41-52 (2000).
175. Handoko, A., Ian, L. & Peter, S.J. Influence of the polydispersity of the added fine lactose on the dispersion of salmeterol xinafoate from mixtures for inhalation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **36**, 265-274 (2009).
176. Sebti, T., Vanderbist, F. & Amighi, K. Evaluation of the content homogeneity and dispersion properties of fluticasone DPI compositions. *J. Drug Del. Sci. Tech.* **17**, 223-229 (2007).
177. Louey, M.D., Razia, S. & Stewart, P.J. Influence of physico-chemical carrier properties on the in vitro aerosol deposition from interactive mixtures. *International Journal of Pharmaceutics* **252**, 87-98 (2003).
178. Dickhoff, B.H.J. Adhesive mixtures for powder inhalation. The effect of carrier (surface and bulk) properties, carrierpayload and mixing conditions on the performance of adhesive mixtures for inhalation. (2006).

179. Ooi, J., Traini, D., Hoe, S., Wong, W. & Young, P.M. Does carrier size matter? A fundamental study of drug aerosolisation from carrier based dry powder inhalation systems. *International Journal of Pharmaceutics* **413**, 1-9 (2011).
180. Venables, H. & Wells, J. Powder Mixing. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **27**, 599 (2001).
181. Hassan, M.S. & Lau, R.W.M. Effect of Particle Shape on Dry Particle Inhalation: Study of Flowability, Aerosolization, and Deposition Properties. *AAPS PharmSciTech* **10**, 1252-1262 (2009).
182. Chawla, A., Taylor, K.M.G., Newton, J.M. & Johnson, M.C.R. Production of spray dried salbutamol sulphate for use in dry powder aerosol formulation. *International Journal of Pharmaceutics* **108**, 233-240 (1994).
183. Larhrib, H., Martin, G.P., Marriott, C. & Prime, D. The influence of carrier and drug morphology on drug delivery from dry powder formulations. *International Journal of Pharmaceutics* **257**, 283-296 (2003).
184. Cabral-Marques, H. & Almeida, R. Optimisation of spray-drying process variables for dry powder inhalation (DPI) formulations of corticosteroid/cyclodextrin inclusion complexes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **73**, 121-129 (2009).
185. Graham Ruecroft Sonocrystallization Can Yield Optimized Inhalable Drug Powders. (2010).
186. Kassem, N.M. & Ganderton, D. The influence of carrier surface on the characteristics of inspirable powder aerosols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **42**, 11P (1990).
187. Kawashima, Y., Serigano, T., Hino, T., Yamamoto, H. & Takeuchi, H. Effect of surface morphology of carrier lactose on dry powder inhalation property of pranlukast hydrate. *International Journal of Pharmaceutics* **172**, 179-188 (1998).
188. Weiler, C., Egen, M., Trunk, M. & Langguth, P. Force control and powder dispersibility of spray dried particles for inhalation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **99**, 303-316 (2010).
189. Zeng, X.M., Martin, G.P., Marriott, C. & Pritchard, J. The influence of carrier morphology on drug delivery by dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **200**, 93-106 (2000).
190. Flament, M.-P., Leterme, P. & Gayot, A. The influence of carrier roughness on adhesion, content uniformity and the in vitro deposition of terbutaline sulphate from dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **275**, 201-209 (2004).
191. Podczeck, F. The relationship between physical properties of lactose monohydrate and the aerodynamic behaviour of adhered drug particles. *International Journal of Pharmaceutics* **160**, 119-130 (1998).
192. Heng, P.W.S., Zhou, Q. & Chan, L.W. Comparison of surface roughness parameters obtained by scanning probe microscopy for carrier particles of dry powder inhalers. *J. Drug Del. Sci. Tech.* **17**, 217-222 (2007).
193. Young, P.M. et al. Composite carriers improve the aerosolisation efficiency of drugs for respiratory delivery. *Journal of Aerosol Science* **39**, 82-93 (2008).
194. Adi, S. et al. Micro-particle corrugation, adhesion and inhalation aerosol efficiency. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **35**, 12-18 (2008).
195. Zeng, X., Martin, G.P., Marriott, C. & Pritchard, J. Lactose as a carrier in dry powder formulations: The influence of surface characteristics on drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **90**, 1424-1434 (2001).
196. Guchardi, R., Frei, M., John, E. & Kaerger, J.S. Influence of fine lactose and magnesium stearate on low dose dry powder inhaler formulations. *International Journal of Pharmaceutics* **348**, 10-17 (2008).
197. Tay, T., Das, S. & Stewart, P. Magnesium stearate increases salbutamol sulphate dispersion: What is the mechanism? *International Journal of Pharmaceutics* **383**, 62-69 (2010).
198. Jones, M.D. & Price, R. The Influence of Fine Excipient Particles on the Performance of Carrier-Based Dry Powder Inhalation Formulations. *Pharm Res* **23**, 1665-1674 (2006).

199. Ferrari, F. et al. The Surface Roughness of Lactose Particles Can Be Modulated by Wet-Smoothing Using a High-Shear Mixer. *AAPS PharmSciTech* **5**, Article 60 (2004).
200. Cocconi, D., Penotti, C., Bettini, R., Colombo, P. & Marriott, C. Smoothed Lactose in inhalation Ordered Mixture. *4th World Meeting ADRITELF/APGI/APV 1003-1004* (2002).
201. Young, P.M., Traini, D., Coates, M. & Chan, H.-K. Recent advances in understanding the influence of composite-formulation properties on the performance of dry powder inhalers. *Physica B: Condensed Matter* **394**, 315-319 (2007).
202. Edwards, D.A., Ben-Jebria, A. & Langer, R. Recent advances in pulmonary drug delivery using large, porous inhaled particles. *Journal of Applied Physiology* **85**, 379 -385 (1998).
203. Edwards, D.A. et al. United States Patent: 5874064 - Aerodynamically light particles for pulmonary drug delivery. (1999).
204. Edwards, D.A. et al. Large Porous Particles for Pulmonary Drug Delivery. *Science* **276**, 1868 -1872 (1997).
205. Cornet, A. & Deville, J.-P. *Physique et ingénierie des surfaces*. (L'Editeur : EDP Sciences: 1998).
206. Begat, P., Morton, D.A.V., Staniforth, J.N. & Price, R. The Cohesive-Adhesive Balances in Dry Powder Inhaler Formulations I: Direct Quantification by Atomic Force Microscopy. *Pharm Res* **21**, 1591-1597 (2004).
207. Young, P.M., Tobyn, M.J., Price, R., Buttrum, M. & Dey, F. The use of colloid probe microscopy to predict aerosolization performance in dry powder inhalers: AFM and in vitro correlation. *J Pharm Sci* **95**, 1800-1809 (2006).
208. Begat, P., Morton, D.A.V., Staniforth, J.N. & Price, R. The Cohesive-Adhesive Balances in Dry Powder Inhaler Formulations II: Influence on Fine Particle Delivery Characteristics. *Pharm Res* **21**, 1826-1833 (2004).
209. Jones, M.D. et al. An investigation into the relationship between carrier-based dry powder inhalation performance and formulation cohesive-adhesive force balances. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **69**, 496-507 (2008).
210. Price, R. The role of material properties on interfacial forces and dispersion behaviour of respirable powders. (2009).
211. Begat, P., Price, R., Harris, H., Morton, D.A.V. & Staniforth, J.N. The Influence of Force Control Agents on the Cohesive-Adhesive Balance in Dry Powder Inhaler Formulations. *Kona* 109-121 (2005).
212. Price, R. Low and High Shear Blending. (2010).
213. Kanda, Y., Higashitani, K. & Masayoshi, F. Surface Properties and Analysis. *Powder Technology Handbook* 67-99 (2006).
214. Jones, R. From Single Particle AFM Studies of Adhesion and Friction to Bulk Flow: Forging the Links. *Granular Matter* **4**, 191-204 (2003).
215. Jones, R. & Hodges, W. Applications of Atomic Force Microscopy to Granular Materials: Inter-particle forces in Air. *Granular materials: fundamentals and applications* (2004).
216. Condotta, R. Coulabilité des poudres cohésives : mesures aux faibles contraintes, granulaires humides et application à une poudre industrielle. (2005).
217. Guyon, É. & Troadec, J.-P. *Du sac de billes au tas de sable*. (Odile Jacob: 1994).
218. Direction de la qualité du médicament *Pharmacopée européenne*. 6.5. (2009).
219. Kaye, B.H. Permeability techniques for characterizing fine powders. *Powder Technology* **1**, 11-22 (1967).
220. Lecloux, A. Exploitation des Isothermes d'adsorption et de désorption d'azote pour l'étude de la texture des solides poreux. *Mémoires Société Royale des Sciences de Liège* **4**, 169-209 (1971).
221. Cline, D. & Dalby, R. Predicting the quality of powders for inhalation from surface energy and area. *Pharm. Res* **19**, 1274-1277 (2002).
222. York, P., Ticehurst, M.D., Osborn, J.C., Roberts, R.J. & Rowe, R.C. Characterisation of the surface energetics of milled dl-propranolol hydrochloride using inverse gas chromatography and molecular modelling. *International Journal of Pharmaceutics* **174**, 179-186 (1998).

223. Feeley, J.C., York, P., Sumbly, B.S. & Dicks, H. Determination of surface properties and flow characteristics of salbutamol sulphate, before and after micronisation. *International Journal of Pharmaceutics* **172**, 89-96 (1998).
224. Airiau, M. Caractérisation de la surface et morphologie des poudres. *Formulation des solides divisés : Des procédés aux propriétés d'usage* 15-32 (2009).
225. Tong, H.H.Y., Shekunov, B.Y., York, P. & Chow, A.H.L. Predicting the aerosol performance of dry powder inhalation formulations by interparticulate interaction analysis using inverse gas chromatography. *J Pharm Sci* **95**, 228-233 (2006).
226. Charmas, B. & Lebeda, R. Effect of surface heterogeneity on adsorption on solid surfaces: Application of inverse gas chromatography in the studies of energetic heterogeneity of adsorbents. *Journal of Chromatography A* **886**, 133-152 (2000).
227. Jefferson, A.E., Williams, D.R. & Heng, J.Y.Y. Computing the Surface Energy Distributions of Heterogeneous Crystalline Powders. *Journal of Adhesion Science and Technology* **25**, 339-355 (2011).
228. Boutreux, T. Ecoulement de surface et compaction des milieux granulaires. (1998).
229. Pohlman, N.A., Severson, B.L., Ottino, J.M. & Lueptow, R.M. Surface roughness effects in granular matter: Influence on angle of repose and the absence of segregation. *Phys. Rev. E* **73**, 031304 (2006).
230. Forsyth, A.J., Hutton, S.R., Rhodes, M.J. & Osborne, C.F. Effect of applied interparticle force on the static and dynamic angles of repose of spherical granular material. *Phys. Rev. E* **63**, 031302 (2001).
231. Jallo, L.J., Chen, Y., Bowen, J., Etzler, F. & Dave, R. Prediction of Inter-particle Adhesion Force from Surface Energy and Surface Roughness. *Journal of Adhesion Science and Technology* **25**, 367-384 (2011).
232. Concessio, N.M., VanOort, M.M., Knowles, M.R. & Hickey, A.J. Pharmaceutical dry powder aerosols: correlation of powder properties with dose delivery and implications for pharmacodynamic effect. *Pharm. Res* **16**, 828-834 (1999).
233. Yu, A.B., Feng, C.L., Zou, R.P. & Yang, R.Y. On the relationship between porosity and interparticle forces. *Powder Technology* **130**, 70-76 (2003).
234. Merle, C., Gayot, A., Guyot, J.C. & Traisnel, M. Application of Permeametry to the study of Behaviour of Mixture. *Acta Pharmaceutica Technologica* **25**, 193-201 (1979).
235. Kaye, B.H. Characterizing a powder mixture by its permeability. *Powder mixing* 100-105 (1997).
236. Mercury porosimetry and effective networks for permeability calculations in porous materials - Permeability Length Scales and the Katz-Thompson Equation. à <http://ciks.cbt.nist.gov/garbocz/paper10/node2.html>
237. Katz, A.J. & Thompson, A.H. Quantitative prediction of permeability in porous rock. *Phys. Rev. B* **34**, 8179 (1986).
238. Chulia, D. Méthode d'évaluation de la rhéologie des poudres. *Formes orales solides* 175-235 (1984).
239. Carter, P.A., Rowley, G., Fletcher, E.J. & Stylianopoulos, V. Measurement of Electrostatic Charge Decay in Pharmaceutical Powders and Polymer Materials Used in Dry Powder Inhaler Devices. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **24**, 1083-1088 (1998).
240. Byron, P.R., Peart, J. & Staniforth, J.N. Aerosol electrostatics. I: Properties of fine powders before and after aerosolization by dry powder inhalers. *Pharm. Res* **14**, 698-705 (1997).
241. Kwok, P.C.L. & Chan, H.-K. Effect of Relative Humidity on the Electrostatic Charge Properties of Dry Powder Inhaler Aerosols. *Pharm Res* **25**, 277-288 (2007).
242. F. S. Bennett, P. A. Carter, G. Rowley & Y. Dandiker Modification of Electrostatic Charge on Inhaled Carrier Lactose Particles by Addition of Fine Particles. *Drug Development & Industrial Pharmacy* **25**, 99-103 (1999).
243. Elajnaf, A., Carter, P. & Rowley, G. Electrostatic characterisation of inhaled powders: Effect of contact surface and relative humidity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **29**, 375-384 (2006).

244. Elajnaf, A., Carter, P. & Rowley, G. Electrostatic characterisation of inhaled powders: Effect of contact surface and relative humidity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **29**, 375-384 (2006).
245. Adi, H. et al. Does electrostatic charge affect powder aerosolisation? *J. Pharm. Sci.* n/a-n/a (2009).doi:10.1002/jps.21996
246. Lastow, O. Electrostatics - Related Solutions. (2011).
247. Freeman, T. & Price, R. Fine Tuning DPI Formulas. *Manufacturing Chemist* 42-44 (2008).
248. Chow, A.H.L., Tong, H.H.Y., Chattopadhyay, P. & Shekunov, B.Y. Particle Engineering for Pulmonary Drug Delivery. *Pharm Res* **24**, 411-437 (2007).
249. Shekunov, B.Y., J, F., Chow, A.H.L., Tong, H.H.Y. & York, P. Physical Properties of Supercritically-Processed and Micronised Powders for Respiratory Drug Delivery. *Kona* 178-187 (2002).
250. Tong, H.H.Y. & Chow, A.H.L. Control of Physical Forms of Drug Particles for Pulmonary Delivery by Spray Drying and Supercritical Fluid Processing. *Kona* **24**, 27-40 (2006).
251. Jeannin, C., Mangeot, A., Verain, A. & Association française des enseignants de pharmacie galénique *Génie pharmaceutique*. (Technique et documentation: Paris, 1982).
252. Levacher, E. [*Phi*] **41**, *pharmacotechnie industrielle*. (IMT éd. ;GREPIC: Tours (38-40 Av. Marcel-Dassault 97206) ;[Orléans] (6 rue Pierre-et-Marie Curie 45926 Cedex 9), 2006).
253. Rhodes, M. *Introduction to particle technology*. (Wiley: Chichester England ;;Hoboken NJ, 2008).
254. Dodds, J.(1942-), Groupe français de génie des procédés & Colloque sur les procédés de broyage (1996 ; Toulouse, F. *Procédés de broyage* : (G.F.G.P.: Nancy [Meurthe et Moselle], 1996).
255. Midoux, N., Hosek, P., Pailleres, L. & Authelin, J.R. Micronization of pharmaceutical substances in a spiral jet mill. *Powder Technology* **104**, 113-120 (1999).
256. Müller, F., Polke, R. & Schädel, G. Spiral jet mills: hold up and scale up. *International Journal of Mineral Processing* **44-45**, 315-326 (1996).
257. Salman, A. & ScienceDirect (Online service) *Particle breakage*. (Elsevier,; Amsterdam ;;Oxford :, 2007).
258. Optimization of the Operating Conditions of a Lab Scale Aljet Mill Using Lactose and Sucrose: A Technical Note. à <<http://www.aapspharmscitech.org/view.asp?art=pt040227>>
259. Société de l'industrie minérale (France) *Broyage fin : Congrès SME (résumés des communications)*. (Société de l'industrie minérale: Paris, 1998).
260. Nakach, M., Authelin, J.-R., Chamayou, A. & Dodds, J. Comparison of various milling technologies for grinding pharmaceutical powders. *International Journal of Mineral Processing* **74**, S173-S181 (2004).
261. Malcolmson, R.J. & Embleton, J.K. Dry powder formulations for pulmonary delivery. *Pharmaceutical Science & Technology Today* **1**, 394-398 (1998).
262. Mécanosynthèse et vitrification à l'état solide d'alliages moléculaires. (2006).
263. Akbarieh, M. & Tawashi, R. Morphic features of solid particles after micronization in the fluid energy mill. *International Journal of Pharmaceutics* **35**, 81-89 (1987).
264. Steckel, H., Rasenack, N., Villax, P. & Müller, B.W. In vitro characterization of jet-milled and in-situ-micronized fluticasone-17-propionate. *International Journal of Pharmaceutics* **258**, 65-75 (2003).
265. Joshi, V., Dwivedi, S. & Ward, G.H. Increase in the specific surface area of budesonide during storage postmicronization. *Pharm. Res* **19**, 7-12 (2002).
266. Rasenack, N. & Müller, B.W. Micron-Size Drug Particles: Common and Novel Micronization Techniques. *Pharmaceutical Development & Technology* **9**, 1-13 (2004).
267. Le Hir, A. *Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments*. (Masson: Paris, 2001).
268. Çelik, M. & Weden, S.C. Spray Drying and Pharmaceutical Applications. *Handbook of pharmaceutical granulation technology* (2010).

269. Kawakami, K., Sumitani, C., Yoshihashi, Y., Yonemochi, E. & Terada, K. Investigation of the dynamic process during spray-drying to improve aerodynamic performance of inhalation particles. *International Journal of Pharmaceutics* **390**, 250-259 (2010).
270. Louey, M.D., Van Oort, M. & Hickey, A.J. Aerosol Dispersion of Respirable Particles in Narrow Size Distributions Using Drug-Alone and Lactose-Blend Formulations. *Pharm Res* **21**, 1207-1213 (2004).
271. Tajber, L., Corrigan, O.I. & Healy, A.M. Spray drying of budesonide, formoterol fumarate and their composites--II. Statistical factorial design and in vitro deposition properties. *International Journal of Pharmaceutics* **367**, 86-96 (2009).
272. Bhavna et al. Nano-salbutamol dry powder inhalation: A new approach for treating broncho-constrictive conditions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **71**, 282-291 (2009).
273. Najafabadi, A.R., Gilani, K., Barghi, M. & Rafiee-Tehrani, M. The effect of vehicle on physical properties and aerosolisation behaviour of disodium cromoglycate microparticles spray dried alone or with L-leucine. *International Journal of Pharmaceutics* **285**, 97-108 (2004).
274. Nalajala, V.S. & Moholkar, V.S. Investigations in the physical mechanism of sonocrystallization. *Ultrasonics Sonochemistry* **18**, 345-355 (2011).
275. Türk, M., Helfgen, B., Hils, P., Lietzow, R. & Schaber, K. Micronization of Pharmaceutical Substances by Rapid Expansion of Supercritical Solutions (RESS): Experiments and Modeling. *Part. Part. Syst. Charact.* **19**, 327-335 (2002).
276. Hezave, A.Z. & Esmaeilzadeh, F. Micronization of drug particles via RESS process. *The Journal of Supercritical Fluids* **52**, 84-98 (2010).
277. Reverchon, E., Della Porta, G. & Pallado, P. Supercritical antisolvent precipitation of salbutamol microparticles. *Powder Technology* **114**, 17-22 (2001).
278. Steckel, H. & Müller, B.W. Metered-dose inhaler formulation of fluticasone-17-propionate micronized with supercritical carbon dioxide using the alternative propellant HFA-227. *International Journal of Pharmaceutics* **173**, 25-33 (1998).
279. Steckel, H., Thies, J. & Müller, B.W. Micronizing of steroids for pulmonary delivery by supercritical carbon dioxide. *International Journal of Pharmaceutics* **152**, 99-110 (1997).
280. York, P. Strategies for particle design using supercritical fluid technologies. *Pharmaceutical Science & Technology Today* **2**, 430-440 (1999).
281. Maa, Y.F., Nguyen, P.A., Sweeney, T., Shire, S.J. & Hsu, C.C. Protein inhalation powders: spray drying vs spray freeze drying. *Pharm. Res* **16**, 249-254 (1999).
282. Sweeney, L.G. et al. Spray-freeze-dried liposomal ciprofloxacin powder for inhaled aerosol drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **305**, 180-185 (2005).
283. Saluja, V. et al. A comparison between spray drying and spray freeze drying to produce an influenza subunit vaccine powder for inhalation. *J Control Release* **144**, 127-133 (2010).
284. Zijlstra, G.S. et al. Formulation and process development of (recombinant human) deoxyribonuclease I as a powder for inhalation. *Pharm Dev Technol* **14**, 358-368 (2009).
285. Mohri, K., Okuda, T., Mori, A., Danjo, K. & Okamoto, H. Optimized pulmonary gene transfection in mice by spray-freeze dried powder inhalation. *J Control Release* **144**, 221-226 (2010).
286. Hadinoto, K., Phanapavudhikul, P., Kewu, Z. & Tan, R.B.H. Dry powder aerosol delivery of large hollow nanoparticulate aggregates as prospective carriers of nanoparticulate drugs: Effects of phospholipids. *International Journal of Pharmaceutics* **333**, 187-198 (2007).
287. El-Gendy, N., Desai, V. & Berkland, C. Agglomerates of Ciprofloxacin Nanoparticles Yield Fine Dry Powder Aerosols. *J Pharm Innov* **5**, 79-87 (2010).
288. Pilcer, G., Vanderbist, F. & Amighi, K. Preparation and characterization of spray-dried tobramycin powders containing nanoparticles for pulmonary delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **365**, 162-169 (2009).

289. Steinberg, M. et al. A New Approach to the Safety Assessment of Pharmaceutical Excipients: The Safety Committee of the International Pharmaceutical Excipients Council. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **24**, 149-154 (1996).
290. Pifferi, G. & Restani, P. The safety of pharmaceutical excipients. *Il Farmaco* **58**, 541-550 (2003).
291. Pilcer, G. & Amighi, K. Formulation strategy and use of excipients in pulmonary drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **392**, 1-19 (2010).
292. Steckel, H. & Bolzen, N. Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations. *International Journal of Pharmaceutics* **270**, 297-306 (2004).
293. Saint-Lorant, G., Leterme, P., Gayot, A. & Flament, M.P. Influence of carrier on the performance of dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **334**, 85-91 (2007).
294. Lerk, C.F. Physicochemical properties of lactose. *22nd Proceedings of the International colloquium on Industrial Pharmacy* 59-89 (1983).
295. Larhrib, H., Zeng, X.M., Martin, G.P., Marriott, C. & Pritchard, J. The use of different grades of lactose as a carrier for aerosolised salbutamol sulphate. *International Journal of Pharmaceutics* **191**, 1-14 (1999).
296. Pitchayajittipong, C., Price, R., Shur, J., Kaerger, J.S. & Edge, S. Characterisation and functionality of inhalation anhydrous lactose. *International Journal of Pharmaceutics* **390**, 134-141 (2010).
297. X.M. Zeng[1], G.P. Martin[1], C. Marriott[1] & J. Pritchard[2] The Influence of Crystallization Conditions on the Morphology of Lactose Intended for Use as a Carrier for Dry Powder Aerosols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **52**, 633-652 (2000).
298. Kumon, M., Suzuki, M., Kusai, A., Yonemochi, E. & Terada, K. Novel approach to DPI carrier lactose with mechanofusion process with additives and evaluation by IGC. *Chem. Pharm. Bull* **54**, 1508-1514 (2006).
299. Kumon, M. et al. Application and mechanism of inhalation profile improvement of DPI formulations by mechanofusion with magnesium stearate. *Chem. Pharm. Bull* **56**, 617-625 (2008).
300. Baldrick, P. & Bamford, D.G. A toxicological review of lactose to support clinical administration by inhalation. *Food Chem. Toxicol* **35**, 719-733 (1997).
301. Morisset, M., Moneret-Vautrin, D., Commun, N., Schuller, A. & Kanny, G. Allergy to Cow Milk Proteins Contaminating Lactose, Common Excipient of Dry Powder Inhalers for Asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **117**, S95 (2006).
302. Kaerger, J.S., Price, R., Young, P.M., Edge, S. & Tobyn, M.J. Carriers for DPIs: formulation and regulatory challenges - Pharmaceutical Technology. *Pharmaceutical Technology Europe* **18**, 25-30 (2006).
303. Marek, S.R., Donovan, M.J. & Smyth, H.D.C. Effects of mild processing pressures on the performance of dry powder inhaler formulations for inhalation therapy (1): Budesonide and lactose. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **In Press, Uncorrected Proof**,
304. Byron, P.R. *Respiratory drug delivery*. (CRC Press: Boca Raton Fla., 1990).
305. Hersey, J.A. The development and applicability of powder mixing theory. *Int. J. Pharm. Tech. & Prod. Mafr.* **1**, 6-13 (1979).
306. Staniforth, J.N. Advances in Powder Mixing and Segregation in Relation to Pharmaceutical Processing. *Int. J. Pharm. Tech. & Prod. Mafr.* **3**, 1-12 (1987).
307. Thiel, W.J., Nguyen, L.T. & Stephenson, P.L. Fluidised bed granulation of an ordered powder mixture reduces the potential for ordered unit segregation. *Powder Technology* **34**, 75-80 (January).
308. Egermann, H. & Orr, N.A. Ordered mixtures -- interactive mixtures. *Powder Technology* **36**, 117-118 (September).
309. Thiel, W.J. Comments on []Ordered mixtures -- interactive mixtures'. *Powder Technology* **39**, 147-149 (1984).

310. Staniforth, J.N. & Rees, J.E. Electrostatic charge interactions in ordered powder mixes. *J. Pharm. Pharmacol* **34**, 69-76 (1982).
311. Staniforth, J.N., Rees, J.E., Lai, F.K. & Hersey, J.A. Interparticle forces in binary and ternary ordered powder mixes. *J. Pharm. Pharmacol* **34**, 141-145 (1982).
312. Cartilier, L. Contribution à l'étude du mélange des poudres à principe actif cohésif et faiblement dosé. (1987).
313. Demeyre, J.-F. Caractérisation de l'homogénéité de mélange de poudres et de l'agitation en mélangeur Triaxe®. (2007).
314. Muzzio, F.J., Robinson, P., Wightman, C. & Dean Brone Sampling practices in powder blending. *International Journal of Pharmaceutics* **155**, 153-178 (1997).
315. Muzzio, F.J. & Alexander, A.W. Batch Size Increase in Dry Blending and Mixing. *Pharmaceutical process scale-up* (2002).
316. Muzzio, F.J. & Alexander, A.W. Scale Up of Powder- Blending Operations. *Pharmaceutical Technology* s34-s42 (2005).doi:Article
317. Young, P.M. et al. The influence of dose on the performance of dry powder inhalation systems. *International Journal of Pharmaceutics* **296**, 26-33 (2005).
318. de Villiers, M.M. Description of the kinetics of the deagglomeration of drug particle agglomerates during powder mixing. *International Journal of Pharmaceutics* **151**, 1-6 (1997).
319. Jones, M.D. et al. The relationship between drug concentration, mixing time, blending order and ternary dry powder inhalation performance. *International Journal of Pharmaceutics* **391**, 137-147 (2010).
320. Shur, J., Harris, H., Jones, M.D., Kaerger, J.S. & Price, R. The role of fines in the modification of the fluidization and dispersion mechanism within dry powder inhaler formulations. *Pharm. Res* **25**, 1631-1640 (2008).
321. Staniforth, J.N. Performance-modifying influences in dry powder inhalation systems. *Aerosol science and technology* **22**, 346-353 (1995).
322. Zeng, X.M., Martin, G.P., Tee, S.-K., Ghoush, A.A. & Marriott, C. Effects of particle size and adding sequence of fine lactose on the deposition of salbutamol sulphate from a dry powder formulation. *International Journal of Pharmaceutics* **182**, 133-144 (1999).
323. Lucas, P., Anderson, K. & Staniforth, J.N. Protein deposition from dry powder inhalers: fine particle multiplets as performance modifiers. *Pharm. Res* **15**, 562-569 (1998).
324. Shur, J., Rogueda, P. & Price, R. Sono-Blending of Dry Powder Inhaler Formulations. (2010).
325. Lexmond, A.J., Hagedoorn, P., van den Noort, M., Hickey, A.J. & de Boer, A.H. The influence of Lactose fines in Adhesive MIXtures for Inhalation. (2010).
326. Clarke, M.J., Layzell, G., Toby, M.J. & Staniforth, J.N. The role of fine particle lactose in agglomerated dry powder aerosol formulations. *J. Pharm. Pharmacol* **50**, 186 (1998).
327. Lucas, P., Anderson, K., Potter, U.J. & Staniforth, J.N. Enhancement of small particle size dry powder aerosol formulations using an ultra low density additive. *Pharm. Res* **16**, 1643-1647 (1999).
328. Hindle, M. & Byron, P.R. Dose emissions from marketed dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **116**, 169-177 (1995).
329. DUVAL, C. Inhalateurs A Poudre Seche Destines A Delivrer Des Principes Actifs Par Voie Pulmonaire : Etude D'une Methode De Granulation De Sulfate D'isoprenaline En Milieu Organique. (1993).
330. Mitchell, J. & Nagel, M. Particle Size Analysis of Aerosols from Medicinal Inhalers. *Kona* 32-65 (2004).
331. Dunbar, C. et al. In vitro and in vivo dose delivery characteristics of large porous particles for inhalation. *International Journal of Pharmaceutics* **245**, 179-189 (2002).
332. Steckel, H. & Brandes, H.G. A novel spray-drying technique to produce low density particles for pulmonary delivery. *International Journal of Pharmaceutics* **278**, 187-195 (2004).

333. Craig, J.D.C. Considerations and Approaches for Filling Dry-Powder Inhalers - Pharmaceutical Technology. *Pharmaceutical Technology* s21-s25 (2010).
334. Juvin, P.-Y.(1982-), Daniel-Gautier, H. & Université de Nantes *Développement d'un aérosol de poudre sèche*. ([s.n.]: [S.l.], 2008).
335. Yang, S. & Evans, J.R.G. Metering and dispensing of powder; the quest for new solid freeforming techniques. *Powder Technology* **178**, 56-72 (2007).
336. Eskandar, F., Lejeune, M. & Edge, S. Low powder mass filling of dry powder inhalation formulations. *Drug Dev Ind Pharm* **37**, 24-32 (2011).
337. Birchall, J.C., Jones, B.E., Morrissey, A. & Jones, B.E. A Comparison of the Puncturing Properties of Gelatin and Hypromellose Capsules for Use in Dry Powder Inhalers. *Drug Development and Industrial Pharmacy* **34**, 870-876 (2008).
338. Ganderton, D. Utilisation de la dose des particules fines pour caractériser les préparations pour inhalation. *Pharmeuropa* **13**, 513-514 (2001).
339. PRÉPARATIONS POUR INHALATION. *Pharmacopée Européenne* (2010).
340. 601. AEROSOLS, NASAL SPRAYS, METERED-DOSE INHALERS, AND DRY POWDER INHALERS. *United States Pharmacopeia* (2010).
341. 2.9.18. PRÉPARATIONS POUR INHALATION : ÉVALUATION AÉRODYNAMIQUE DES PARTICULES FINES. *Pharmacopée Européenne*
342. Mitchell, J.P. Particle Size Analysis of Aerosols from Medicinal Inhalers. *Kona* **22**, 32-65 (2004).
343. Hallworth, G.W. & Westmoreland, D.G. The twin impinger: a simple device for assessing the delivery of drugs from metered dose pressurized aerosol inhalers. *J. Pharm. Pharmacol* **39**, 966-972 (1987).
344. Taki, M., Marriott, C., Zeng, X.-M. & Martin, G.P. Aerodynamic deposition of combination dry powder inhaler formulations in vitro: A comparison of three impactors. *International Journal of Pharmaceutics* **388**, 40-51 (2010).
345. Jashnani, R.N., Byron, P.R. & Dalby, R.N. Testing of dry powder aerosol formulations in different environmental conditions. *International Journal of Pharmaceutics* **113**, 123-130 (1995).
346. Committe for medicinal products for human use (CHMP) Guideline on the pharmaceutical quality of inhalation and nasal products. (2006).

PARTIE B
MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Caractérisation physico-chimique des excipients et des principes actifs

1.1 Analyse granulométrique ^{1,2}

1.1.1 Analyse granulométrique du lactose :

La répartition granulométrique du lactose est déterminée au granulomètre laser, Mastersizer S (Malvern) en voie liquide en utilisant la lentille 300RF et l'unité de dispersion pour petits échantillons. L'échantillon est dispersé dans l'éthanol contenant 0,5% de tensioactif (Tween 80) par agitation magnétique pendant 4 minutes puis dispersion à l'ultrason pendant 1 minute. Chaque excipient est analysé 3 fois et les paramètres suivants sont mesurés pour apprécier la répartition granulométrique :

- D(4,3) : diamètre moyen en masse
- D (v, 0.5) : diamètre médian
- D (v, 0.1) : diamètre sous lequel se trouve 10% de l'échantillon
- D (v, 0.9) : diamètre sous lequel se trouve 90% de l'échantillon

La vérification de l'efficacité de dispersion est faite par l'observation microscopique (Microscope Nikon Eclipse E400). Cette dispersion est déposée sur une lame à l'aide d'une pipette puis laissée sécher sous hotte. L'échantillon est ensuite examiné à différents grossissements (x20 et x40). Les photos des particules qui sont bien séparées sont prises à une luminosité suffisante pour distinguer les formes et tailles des particules à l'aide d'une caméra Sony Hyper HAD. L'ultrason pendant 1 minute est suffisant pour individualiser les particules, spécialement les particules fines adhérant à la surface des grandes particules.

1.1.2 Analyse granulométrique du principe actif :

La répartition granulométrique du principe actif est déterminée au granulomètre laser, Mastersizer S, en voie liquide dans un solvant dispersant approprié, à savoir une solution à 0,05% de lécithine dans le cyclohexane. Pour éviter le phénomène de dissolution des particules lors de mesure, la solution de dispersant est saturée en principe actif et filtrée avant l'utilisation. Dans le cas du propionate de fluticasone (FP), le dispersant est un mélange eau/éthanol 90 :10 saturé en FP et contenant 0,5% de Tween 80. L'échantillon est dispersé dans le milieu dispersant par agitation magnétique pendant 4 minutes puis dispersion à l'ultrason pendant 3 minutes. Chaque lot de principe actif est analysé 3 fois et les paramètres suivants sont mesurés pour apprécier la répartition granulométrique :

- D(4,3) : diamètre moyen en masse
- D (v, 0.5) : diamètre médian
- D (v, 0.1) : diamètre sous lequel se trouve 10% de l'échantillon
- D (v, 0.9) : diamètre sous lequel se trouve 90% de l'échantillon

La séparation totale des particules est vérifiée par observation microscopique et étude de l'influence du temps d'ultrason. À 3 minutes d'ultrason, la distribution

granulométrie ne change plus. Cette durée de temps est choisie pour individualiser les échantillons.

1.2 Mesure de la masse volumique:

La masse volumique pycnométrique est la valeur expérimentale mesurée la plus proche de la masse volumique vraie. Elle est déterminée par mesure du volume occupé par une masse connue de poudre, obtenue de façon précise à l'aide d'une balance, par équivalence avec le volume de gaz déplacé par la poudre dans un pycnomètre à hélium. Elle exclut le volume des pores ouverts mais inclut celui des pores fermés que le gaz ne peut atteindre.

La masse volumique est déterminée par le pycnomètre à Hélium – AccuPyc 1330 (Micromeritics). Le résultat est la moyenne de dix mesures.

1.3 Microdosage de l'eau ^{3,4}

Le microdosage de l'eau est réalisé par la méthode de Karl-Fisher. Ce dosage met en jeu des réactions chimiques couplées à un coulomètre muni d'une cellule à diaphragme. Cette méthode, très sensible, est adaptée au dosage de très faibles concentrations en eau (de l'ordre du mg/L). La méthode est rapide, fiable, précise et indépendante de l'état d'agrégation, du type d'échantillon et de la présence de composés volatils.

La présence de vapeur d'eau atmosphérique devant être évitée, le récipient du dosage est isolé de l'atmosphère par des tubes de séchage, remplis de tamis moléculaires. En outre, le solvant de dilution n'étant que très rarement anhydre, par suite de son caractère hygroscopique, il faut déterminer sa teneur en eau, préalablement au dosage. Le réactif, mélange de dioxyde de soufre, d'iode et de base, est caractérisé par le nombre de mg d'eau qui peuvent être neutralisés par un mL de réactif, ce qu'on appelle la concentration massique équivalente en eau ou encore le titre T du réactif. Le réactif utilisé est un mélange commercialisé sous le nom Hydranal® Composite 5 dont le titre est de 5 mg d'eau/mL. Ce dernier contient de l'imidazole comme solvant. L'échantillon de lactose est dispersé dans le mélange méthanol – diméthylformamide (USP 30).

Chaque échantillon est mesuré 3 fois.

1.4 Analyse thermique par analyse calorimétrique différentielle (DSC) ¹

Cette technique permet de mesurer le flux de chaleur différentiel, émis ou absorbé par l'échantillon analysé comparativement à la cellule de référence en fonction de la température.

L'appareil utilisé est un calorimètre DSC1 Star System (Mettler Toledo). L'échantillon (environ 5-10 mg) est placé dans une capsule d'aluminium perforée ce qui permet à l'eau ou au solvant éventuellement présent de quitter plus facilement l'échantillon. La référence est une capsule d'aluminium vide. Les échantillons étudiés sont chauffés à la vitesse de 10°C/min sous un balayage d'azote de 40 ml/min. L'appareil est calibré à

l'indium. La plage de température étudiée est en fonction de l'échantillon, à savoir 20 à 260°C pour les lactoses, 20 à 400°C pour le propionate de Fluticasone...

1.5 Mesure de la surface spécifique par adsorption gazeuse^{1,5}:

La mesure de la surface spécifique de la poudre est réalisée par la méthode de B.E.T. Cette méthode est basée sur le phénomène d'adsorption gazeuse sur un solide. La procédure de l'adsorption d'azote à la température de liquéfaction a été utilisée, à l'aide de système ASAP 2010 (Micromeritics). Une quantité de poudre pour obtenir environ 1 m² de surface est pesée. Le dégazage est réalisé à 70°C pendant 2 h avant la mesure. Le résultat est calculé à partir des points linéaires de l'équation de B.E.T avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,99.

1.6 Analyse de la distribution porosimétrique au porosimètre à mercure⁶⁻⁹

Pour un liquide non mouillant comme le mercure, les forces de mouillage s'opposent à sa pénétration dans les pores. Il est donc nécessaire d'appliquer une pression pour vaincre ces forces, pression qui doit être d'autant plus élevée que les pores sont étroits. Pour un modèle de pores cylindriques, la relation entre le diamètre des pores et la pression d'enfoncement du mercure est donnée par l'équation de Washburn :

$$D = -\frac{4\gamma \cos\theta}{P}$$

Où D = diamètre des pores

P = pression d'enfoncement du mercure

γ = tension superficielle du mercure

θ = angle de contact entre mercure – solide étudié.

En effet, en fonction de la pression exercée, trois phénomènes distincts peuvent intervenir successivement : le compactage du lit de poudre, la porosité inter-particulaire et la porosité intra-particulaire.

En début d'expérience, le mercure qui n'a pas encore pénétré dans le lit de poudre exerce une pression anisotrope sur l'échantillon. Un compactage qui résulte du réarrangement des particules est observé. Cette réduction de volume traduit l'existence de voûtes dans l'empilement des particules. La formation de ces voûtes est favorisée par des forces de friction ou de cohésion inter-particulaires. Il s'agit éventuellement d'agglomérats de particules qui pourraient être déformés et écrasés lors de l'augmentation de pression.

L'empilement des particules solides crée un système de pores inter-particulaires (porosité inter-particulaire) dont le remplissage par le mercure se traduit par une marche sur la courbe expérimentale. L'intensité de cette marche permet d'évaluer le volume poreux emprisonné dans le réseau tridimensionnel formé par les particules. Le diamètre moyen des pores inter-particulaires est calculé à partir du point d'inflexion de la courbe expérimentale¹⁰.

Pour les pressions les plus élevées, le mercure pénètre enfin dans les pores intraparticulaires. Les informations relatives à la porosité ouverte des particules solides sont ainsi obtenues.

Pour déterminer la structure porosimétrique de différents lactoses, un gramme de transporteur est pesé et transféré dans la cellule de mesure du porosimètre AutoPore IV 9500 (Micromeritics). La gamme de pression s'exerçant sur la poudre est de 0 à 12,5 MPa. Il a été constaté que les cristaux de l'alpha lactose monohydrate se sont brisés à partir de 50 MPa ¹¹. Par conséquent, la fragmentation est ici évitée. Les paramètres exploités sont la perméabilité selon Darcy et la taille de pore inter-particulaire calculée à partir du point d'inflexion de la courbe du volume d'intrusion en fonction de la pression.

1.7 Mesure de l'angle de repos statique ¹

Afin de caractériser l'aptitude rhéologique du mélange, l'angle de repos statique a été mesuré. Il s'agit de l'angle solide constant que forme, par rapport à une base horizontale, un tas de poudre de forme conique après écoulement de la poudre à travers un entonnoir. La mesure se fait par un système entonnoir où la hauteur entre l'orifice de l'entonnoir sans tige ($\varnothing = 8$ mm) et le papier millimétré (sur base horizontale circulaire de 14 cm de diamètre) est fixée à 6 cm. Une quantité de 25 g de mélange est versée avec soin dans l'entonnoir. Pour faciliter l'écoulement des poudres cohésives, une faible vibration manuelle se fait au niveau de l'entonnoir. L'angle de repos est déterminé par le calcul de l'angle à partir des mesures du cône. Chaque échantillon est mesuré 3 fois.

Les résultats sont analysés selon le tableau B.1 donné dans la Pharmacopée Européenne :

Tableau B.1. Echelle d'aptitude à l'écoulement basée sur l'angle de repos ⁽¹⁾

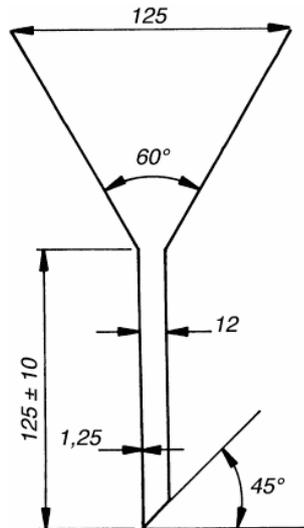
Aptitude à l'écoulement	Angle de repos (degrés)
Excellente	25-30
Bonne	31-35
Assez bonne (facilitation non nécessaire)	36-40
Passable (risque de blocage)	41-45
Médiocre (facilitation nécessaire par ...)	46-55
Très médiocre	56-65
Extrêmement médiocre	> 66

(1) Carr RL. Evaluating flow properties of solids. *Chem. Eng* 1965 ; 72:163-168.

1.8 Ecoulement – Volumes apparents ¹

L'écoulement du lactose et les volumes apparents avant et après tassement sont déterminés selon la méthode décrite à la Pharmacopée Européenne.

L'essai consiste à mesurer le temps d'écoulement d'un échantillon (100 g si possible) à travers un entonnoir dont les caractéristiques sont les suivantes :



(Dimension en mm)

Figure B.1. Entonnoir standardisé pour la mesure de l'écoulement de poudre

L'échantillon est récupéré dans une éprouvette normalisée soumise à des tassements :

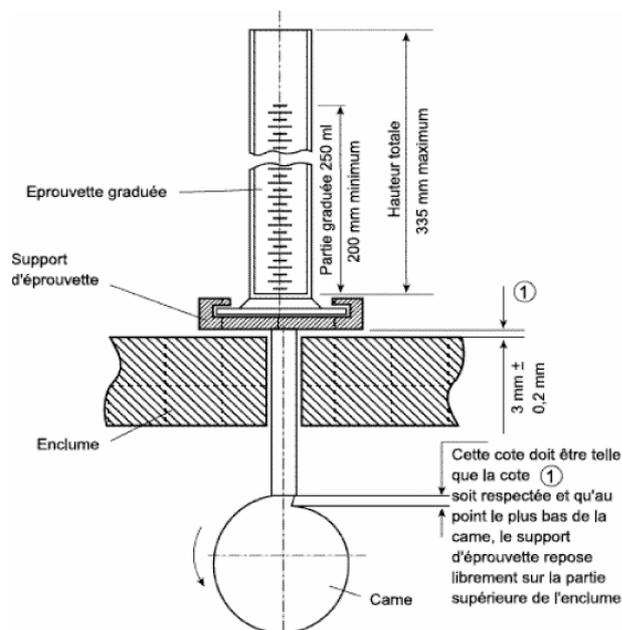


Figure B.2. Dispositif de tassement – dimensions en millimètres

Nous mesurons le volume vrac (V_0), et les volumes après 10 et 500 tassements. La différence $V_{10} - V_{500}$ représente l'aptitude au tassement.

1.9 Développement d'une méthode pour déterminer la perméabilité du lit de poudre ¹²⁻¹⁶

Nous avons développé une méthode pour déterminer la perméabilité d'un lit de poudre. L'objectif est d'essayer d'interpréter la structure d'une poudre. Nous utilisons la perméabilimétrie c'est-à-dire l'étude de l'écoulement d'air à travers un lit de poudre. L'appareil de Blaine (Prolabo®), décrit à la Pharmacopée Européenne est utilisé.

L'appareil se compose des éléments suivants.

(a) Une cellule de perméabilité (figure .1)

(b) Un manomètre en U (E) (figure .2)

Le manomètre est fixé solidement de façon à assurer la verticalité des branches. Il est rempli jusqu'au repère inférieur de paraffine liquide légère.

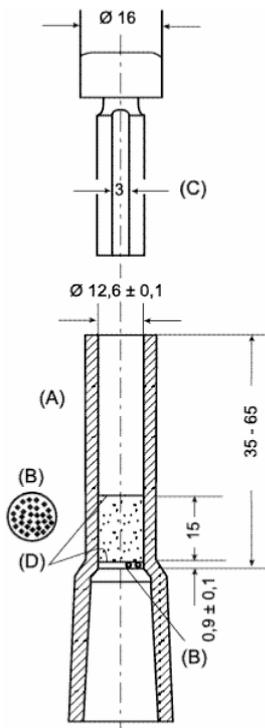


Figure B.3.1 : Cellule de perméabilité

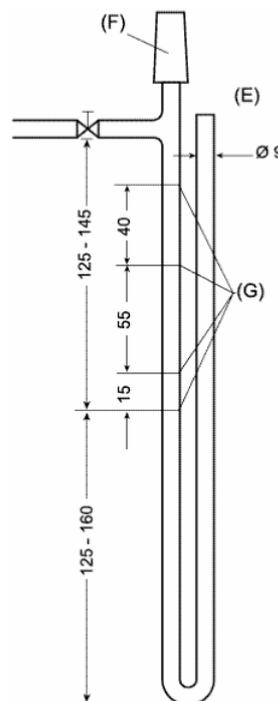


Figure B.3.2 : Manomètre

(Dimensions en millimètres)

Mode opératoire :

Placez un disque de papier filtre sur le disque de métal perforé. Pesez une prise d'essai de 1,590 (+/- 0,005) gramme de poudre. Transférez soigneusement la poudre dans la cellule de perméabilité, préalablement nettoyée, et tapotez légèrement le tube afin d'aplanir la surface du lit de poudre (5 fois), puis couvrez avec un second disque de papier filtre. À l'aide d'un cylindre de poids de 10 g, placez le second disque de papier filtre sur la surface de la colonne de poudre sans exercer aucune force.

Raccordez la cellule de perméabilité au manomètre de façon à assurer une connexion étanche et sans laisser passer l'air à l'inverse (du bas en haut de la cellule de mesure). À l'aide d'une poire en caoutchouc, évacuez l'air contenu dans le manomètre jusqu'à ce que le niveau du liquide coloré atteigne le repère supérieur. Fermez le robinet et vérifiez l'étanchéité de l'appareil en obturant hermétiquement l'ouverture supérieure de la cellule de perméabilité, par exemple avec un bouchon de caoutchouc. Supprimez l'obturation, puis à l'aide d'un chronomètre, mesurez le temps mis par le liquide pour descendre du deuxième au troisième repère.

Chaque échantillon est mesuré 8 fois. 3 échantillons par mélange sont mesurés.

Ce mode opératoire est modifié à partir de la monographie « Surface spécifique par perméabilité à l'air » dans la Pharmacopée Européenne. Dans notre cas, nous ne calculons pas la surface spécifique.

1.10 Détermination de l'énergie de surface de transporteurs par la méthode de chromatographie gazeuse inverse ¹⁷

Les mesures de l'énergie de surface sont réalisées au Department of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Pharmaceutical Institute, University of Kiel, Allemagne à l'aide du système de chromatographie gazeuse inverse SMS-OGC 2000 System de Surface Measurement Systems.

Un gramme de poudre ($\pm 0,02$ g) est pesé et transféré dans une colonne en verre de dimensions 3 mm x 30 cm. La poudre est tenue dans la colonne à l'aide de laine de verre traitée avec le silane (Supelco, Sigma-Aldrich). La colonne est ensuite tassée pendant 10 min par le tasseur IGC Column Packer à l'intensité moyenne (niveau 6). L'échantillon est équilibré avec l'air à 0% d'humidité relative et 35°C pendant 2h pour enlever les impuretés et l'eau physisorbée à la surface. La méthode de concentration finie (0,1 p/p° pour le méthane et 0,04 p/p° pour les autres sondes) est utilisée pour la mesure. L'hélium sert de gaz transporteur. La détection de sonde est réalisée à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme. Deux mesures ont été réalisées pour chaque échantillon.

Les sondes apolaires utilisées sont : le décane, le nonane, l'octane, l'heptane et l'hexane (> 99%, Sigma-Aldrich)

Les sondes acide-basiques utilisées sont : l'acétonitril (basique) l'acétone (amphotère), l'éthanol (acide) et l'éther d'éthyle (HPLC grade, Merck et Sigma-Aldrich).

Le méthane est utilisé pour déterminer le temps mort.

Le calcul et l'exploitation de résultats sont discutés dans les chapitres concernés.

II. Évaluation des mélanges

2.1 Préparation des mélanges

Les mélanges sont réalisés au mélangeur Turbula à la température de 20°C (\pm 2°C) et à 35-45% d'humidité relative. Les autres conditions, à savoir la quantité, la concentration de principe actif, la vitesse de mélange, le temps de mélange, le volume du récipient, sont en fonction du principe actif.

Le mélange est conservé à 20°C et 12% d'humidité relative pendant 24 h avant les prélèvements pour le dosage et les tests de performance.

2.2 Détermination de l'uniformité de teneur

La teneur en principe actif est déterminée soit par HPLC (Système Prostar® de Varian, avec la colonne Gemini 5 μ , C18, 110 Å, 150 x 4,6 mm) soit par la spectrophotométrie (UV-1650 PC UV-Vis Spectrophotometer, Shimadzu) en fonction du principe actif. Les échantillons ne sont prélevés que 24 h après l'obtention du mélange. La teneur en principe actif et le coefficient de variation de teneur sont calculés à partir de 15 (ou 20) échantillons prélevés dans le mélange.

2.3 Evaluation des caractéristiques d'adhésion ¹⁸

Les caractéristiques d'adhésion principe actif/ transporteur sont évaluées en soumettant le mélange à un tamisage par dépression d'air avec un tamiseur à jet d'air Alpine.

Pour l'ensemble des tamisages réalisés, la température et l'humidité relative de l'air sont contrôlés (35 – 45% HR et 20 – 22°C) du fait de l'influence de ces paramètres sur l'adhésion principe actif/ transporteur. Les essais se font 24h après le mélange pour limiter les effets électrostatiques.

Le mélange est placé sur un tamis circulaire normalisé (7), recouvert d'un couvercle de polyméthacrylate de méthyle (6) et fixé sur le boîtier étanche de la tamiseuse. Les particules sont soumises d'une part au flux d'air de la buse d'arrivée d'air, et d'autre part à une aspiration à travers le tamis. A l'intérieur de ce boîtier, débouchent deux canalisations :

- une arrivée d'air aboutissant à une buse fendue longitudinalement (4), disposée radialement sous le tamis,
- l'autre sert à l'aspiration (3) : l'air entraîne ainsi les particules les plus fines vers un orifice de sortie.

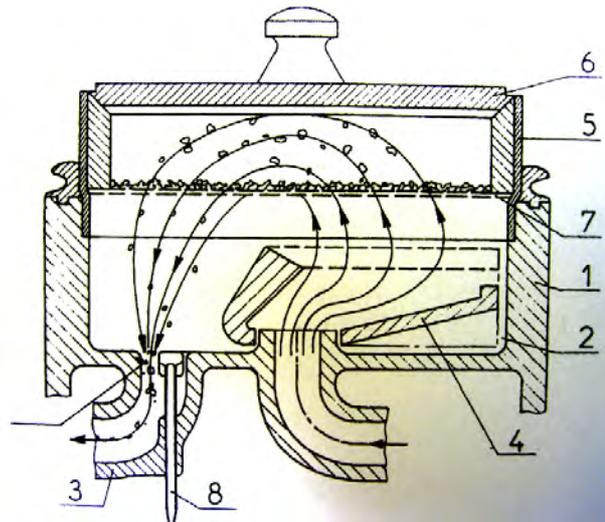


Figure B.4. Schéma du tamiseur à dépression d'air Alpine

La buse est animée d'un mouvement rotatif autour d'un axe vertical, balayant ainsi toute la surface tamisante. Le courant d'air, dirigé de bas en haut, décolmate les ouvertures du tamis et maintient les particules en suspension. Les particules de principe actif de faible diamètre qui se détachent du transporteur peuvent passer à travers le tamis et être aspirées par la buse d'aspiration. Le débit est réglé à l'aide de bagues coulissantes (8) et contrôlé au moyen d'un manomètre. L'aspiration est réglée de façon à obtenir une dépression d'air de 4kPa.

Mode opératoire :

30 grammes de mélange sont placés sur un tamis de 32 μm . Trois échantillons de 20 mg correspondant à la dose unitaire du fluticasone sont prélevés à différents temps : 5, 30, 60, 150 et 300 secondes. Pour chaque échantillon, nous déterminons le pourcentage de principe actif restant fixé au transporteur par rapport à la dose initiale. Les résultats présentés correspondent à la moyenne de trois mesures.

Cet essai nous permet d'apprécier la facilité avec laquelle le principe actif peut se détacher du transporteur lorsque le mélange principe actif/ transporteur est placé dans un courant d'air.

2.4 Evaluation aérodynamique des particules fines ¹

Le dépôt in vitro du principe actif à partir du mélange de poudre peut être déterminé avec un impacteur à cascade en verre (Appareil A ou Twin Stage Impinger) par la méthode décrite dans la Pharmacopée européenne. Des gélules de taille 3 ont été utilisées. Le remplissage des gélules a été fait manuellement. Le débit d'air qui traverse l'appareil est réglé à 60 l/min, ce qui donne un diamètre seuil de 6,4 μm . La pompe est mise en marche 5 secondes pour chaque gélule. Au total, cinq gélules sont utilisées pour chaque expérience. Pour chaque mélange, les essais sont réalisés trois fois.

Le dispositif utilisé pour disperser la poudre est l'inhalateur Ingelheim (Boehringer) :



Figure B.5. Inhalator Ingelheim (Boehringer)

III. Caractérisation des propriétés dynamiques des transporteurs et des mélanges:

Pour assurer la reproductibilité des mesures de propriétés rhéologiques dynamiques des poudres, l'échantillonnage n'est fait qu'après un léger mélange de l'ensemble de l'échantillon pour aérer la poudre. Les appareils sont toujours dans la période valide de l'étalonnage pour assurer la validité des mesures et la comparabilité des résultats.

3.1 Cellule d'analyse rhéologique de poudre - Système d'analyseur de Texture TaXTPlus¹⁹:

Principe de fonctionnement :

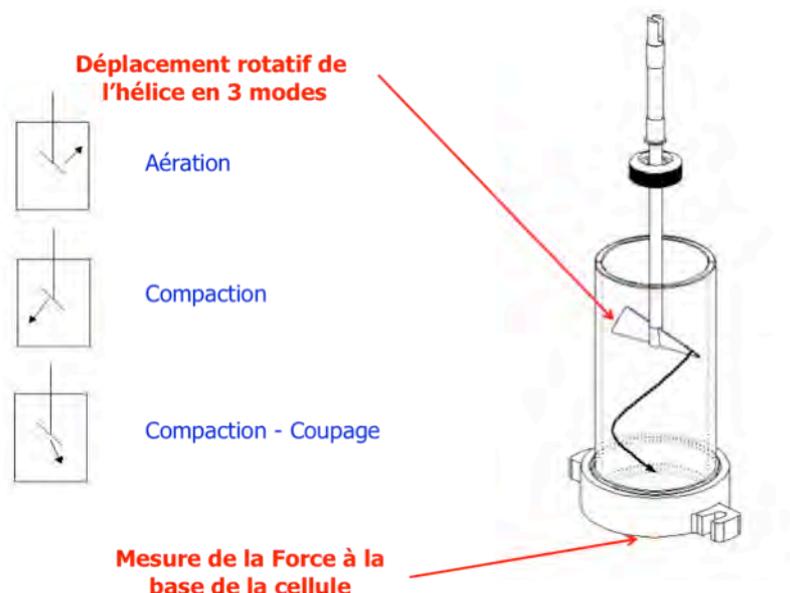


Figure B.6. Principe de la cellule d'analyse rhéologique de poudre

La cellule d'analyse rhéologique de poudre est un module démontable du système d'analyseur de texture TaXTPlus (Stable Micro Systems). Elle est composée de :

- Un récipient en verre borosilicaté de volume approprié à nos expériences (diamètre 25 mm).
- La base de mesure de force connectée directement au système TaXTPlus
- L'hélice rotative commandée par un moteur programmable, connectée au système TaXTPlus.
- Des programmes de mesure modifiables

Pour la mesure de cohésion de la poudre, une quantité de poudre équivalente à 25 mL est pesée et transférée dans le récipient. On lance ensuite le programme de mesure de cohésion qui va réaliser les étapes de mesure suivantes :

- 2 cycles de conditionnement où l'hélice descend et monte à travers le lit de poudre avec un angle rotatif permettant de perturber le lit et ainsi d'éviter l'influence de l'historique de la poudre sur le résultat. Ces cycles de conditionnement assurent la reproductibilité de mesures.
- 1 cycle de mesure avec une phase de descente et une phase de montée. La force et la distance parcourue par l'hélice sont enregistrées.
- L'indice de cohésion de la poudre est calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$CI = \frac{Aire_{11mm-54mm}}{Poids}$$

Où $Aire_{11mm-54mm}$ est l'aire de la surface sous la courbe « force en fonction du déplacement de l'hélice », en phase de montée. Elle correspond à l'énergie nécessaire pour déplacer l'hélice dans le lit de poudre de la position de 11 mm à 54 mm.

3.2 Rhéomètre Freeman FT4 ²⁰⁻²³:

Le fonctionnement du rhéomètre Freeman FT4 est assez similaire à celui de la cellule d'analyse de poudre du TaXTPlus. Il mesure également l'énergie lors du déplacement d'une hélice à travers un lit de poudre. Cependant, l'hélice du Freeman FT4 peut mesurer le couple de torsion dû à l'interaction avec le lit de poudre. Cette composante n'est pas prise en compte dans le cas de la cellule d'analyse rhéologique de poudre du TaXTPlus. En plus, les modules démontables du Freeman FT4 permettent de déterminer plusieurs propriétés rhéologiques de la poudre, notamment la perméabilité de la poudre (à pression constante ou à vitesse d'air constante), la compressibilité (la diminution de volume en fonction de la pression) et les comportements à l'état fluidisé. Les résultats sont calculés par le logiciel de l'appareil (Analysis).

Dans notre étude, nous avons utilisé les programmes de mesure suivants : le test dynamique, la perméabilité de poudre à vitesse d'air constante, le test d'aération.

L'étalonnage de l'appareil est fait chaque trimestre pour assurer la validité des mesures de forces et de distance.

Principe de fonctionnement

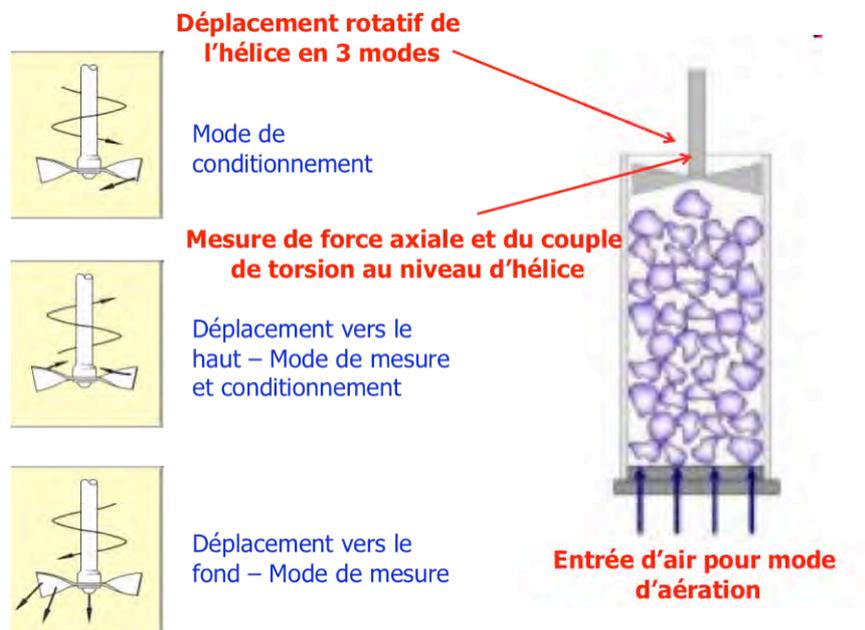


Figure B.7. Principe cellule d'analyse rhéologique de poudre

3.2.1 Test dynamique :

Le test dynamique est réalisé en utilisant la cuve de clivage composée de 2 parties amovibles : la cuve inférieure de volume 160 mL et la cuve supérieure de volume 85 mL, connectées par un anneau de clivage. La pàle de 48 mm doit être utilisée avec cette cuve.



Figure B.8. La cuve de clivage (160 mL) pour le test dynamique

Après l'assemblage de la cuve et l'installation à la table de mesure, le test est lancé en choisissant le programme de test dynamique (écrit par Freeman). Le programme réalise les étapes de mesure suivantes :

3.2.1.1 Clivage :

La pale de l'hélice fonctionne en mode de conditionnement. Après 1 cycle de conditionnement, l'ensemble de la cuve est clivé au niveau de l'anneau de clivage pour avoir un volume précis de 160 mL de poudre. Le cycle de conditionnement a pour but d'éviter l'influence de l'historique de la poudre (stockage, agglomérations) sur le résultat.

Dans cette étape, la densité de poudre vrac conditionnée (CBD = Conditioned Bulk Density) est calculée selon l'équation :

$$CBD = \frac{\text{Masse de poudre après clivage}}{\text{Volume de cellule après clivage}}$$

Le volume de cellule après clivage est 160 mL dans ce cas.

3.2.1.2 Séquence de stabilité d'écoulement :

Dans cette séquence de mesure, chaque cycle de mesure comprend d'une phase de conditionnement (C) et d'une phase de mesure (T). La force et le couple sont enregistrés en continu ainsi que la distance de déplacement. Cette séquence comprend 7 cycles à la vitesse de pointe de la pale de 100 mm/s.

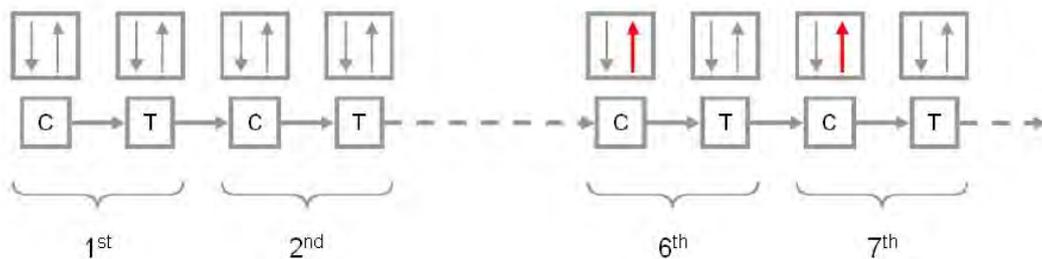


Figure B.9. Séquence de mesure de stabilité d'écoulement

Dans cette étape, nous déterminons les paramètres suivants:

- *l'énergie d'écoulement (mJ)* : le travail calculé à partir des mesures de toutes les forces s'exerçant sur la pale de l'hélice lors du déplacement de la poudre. Elle est calculée par l'équation :

$$\text{Energie d'écoulement} = \text{énergie due au couple} + \text{énergie due à la force}$$

- *BFE (Basic Flow Energy – l'énergie d'écoulement de base) (mJ)*: l'énergie totale nécessaire pour le déplacement dans un lit de poudre conditionné quand la pale de l'hélice descend dans des conditions de consolidations spécifiques (la vitesse de pointe de la pale de l'hélice est de 100 mm/s et l'angle rotatif de l'hélice est de

-5°), L'énergie d'écoulement mesurée dans l'essai 7 est définie comme la BFE (Basic Flow Energy).

- *SE (Specific Energy = Énergie spécifique) (mJ/g)*: l'énergie par gramme de poudre nécessaire pour déplacer un lit de poudre conditionné au cours de la montée de la pale de l'hélice à un angle rotatif négatif de -5° (cycles 6 et 7). Dans ces conditions, il n'y a pas de consolidation. Par conséquent, cette énergie représente la cohésion de la poudre. L'énergie spécifique est calculée selon l'équation :

$$SE = \frac{FE_{montée}^6 + FE_{montée}^7}{2m}$$

où $FE_{montée}^6$, $FE_{montée}^7$ sont les énergies d'écoulement mesurées à la phase de montée des cycles 6 et 7 et m le poids de 160 mL de poudre.

- *SI (Stability Index)* : indice de stabilité défini comme le rapport de l'énergie d'écoulement mesurée après n répétitions du cycle d'essai sur celle mesurée au premier cycle d'essai. Dans ce cas, SI est le rapport de la BFE et de l'énergie d'écoulement au premier cycle d'essai

$$SE = \frac{FE_{descente}^7}{FE_{descente}^1} = \frac{BFE}{FE_{descente}^1}$$

où $FE_{descente}^7$, $FE_{descente}^1$ sont les énergies d'écoulement mesurées à la phase de descente des cycles 7 et 1.

3.2.1.3 Influence de la vitesse

Dans cette séquence de mesure, la vitesse d'enfoncement de la pale est progressivement diminuée. L'énergie d'écoulement de chaque cycle est mesurée.

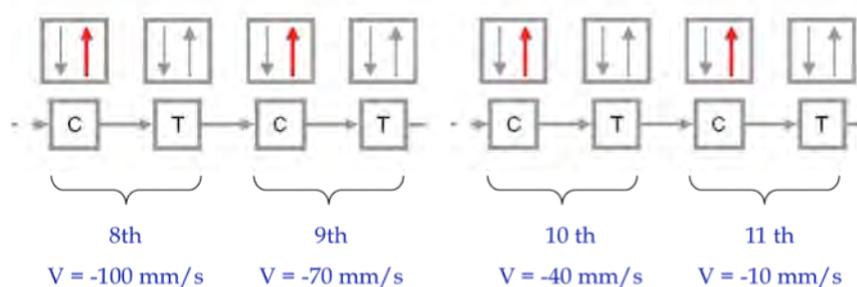


Figure B.10. Séquence de mesure de l'influence de la vitesse

Dans cette étape, le FRI est déterminé.

- *FRI (Flow rate Index) : Indice de vitesse d'écoulement* : cet indice permet d'évaluer le changement de l'énergie d'écoulement lorsque la vitesse de pointe de la pale de l'hélice diminue d'un facteur 10

$$FRI = \frac{FE_{descente}^{10mm/s}}{FE_{descente}^{100mm/s}}$$

3.2.2 Mesure de la perméabilité

La perméabilité est mesurée à une vitesse d'air constante à savoir 2 mm/s. La cuve de volume 85 mL est connectée à la base ventilée. La pale de 48 mm n'est utilisée que dans le cycle de conditionnement. Les mesures sont réalisées avec un piston ventilé pour laisser échapper l'air de bas en haut.

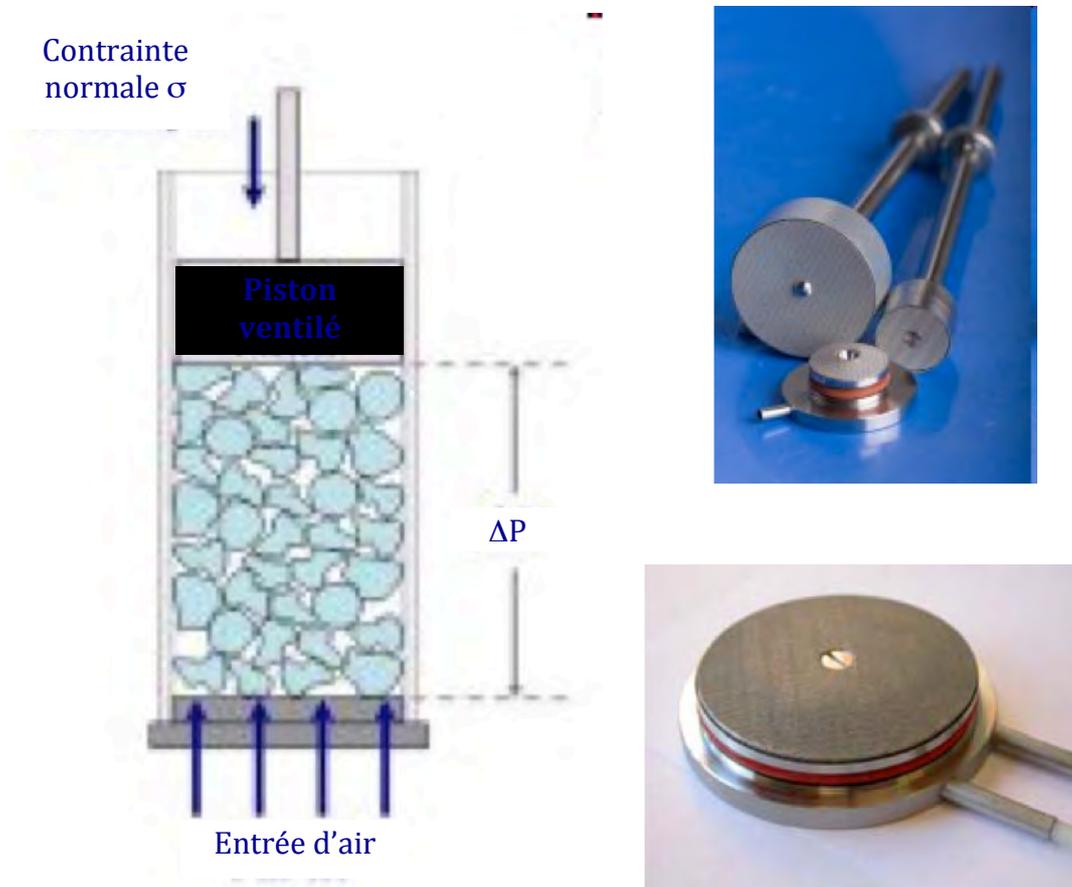


Figure B.11. Les matériels et le principe de la mesure de perméabilité

Mode opératoire

Un assemblage spécial est utilisé pour le test de perméabilité. La cuve de clivage de 85 mL est composée de 2 cuves : la cuve inférieure de 85 mL connectée à la base ventilée, la cuve supérieure de 85 mL assemblée avec la partie inférieure par l'anneau de clivage. L'ensemble est installé sur la table de mesure. Une quantité de 85 mL de poudre est introduite dans la cuve. D'abord, la pale de l'hélice de 48 mm est montée pour réaliser le cycle de conditionnement. Après celui-ci, la pale est remplacée par le piston ventilé. La cuve est clivée pour enlever l'excès de poudre. La quantité de poudre est pesée directement pour les calculs du résultat. Dans les opérations suivantes, la cuve reste en position ouverte. Lors du démarrage du test, le piston est descendu à la surface de la poudre. La valve d'air, commandée par l'unité de contrôle d'aération, est ouverte pour atteindre une vitesse d'air de 2 mm/s. Ensuite, des contraintes croissantes sont progressivement appliquées sur le lit de poudre. L'enregistrement de la pression différentielle à travers le lit de poudre n'est fait que lorsque la stabilité de la contrainte est atteinte.

La perméabilité de la poudre est calculée selon l'équation suivante :

$$k = \frac{q\mu L}{\Delta P}$$

avec k: la perméabilité

q : la vitesse d'air, ici 2 mm/s

ΔP : la pression différentielle à travers le lit de poudre

μ : viscosité de l'air

L : la hauteur de lit de poudre

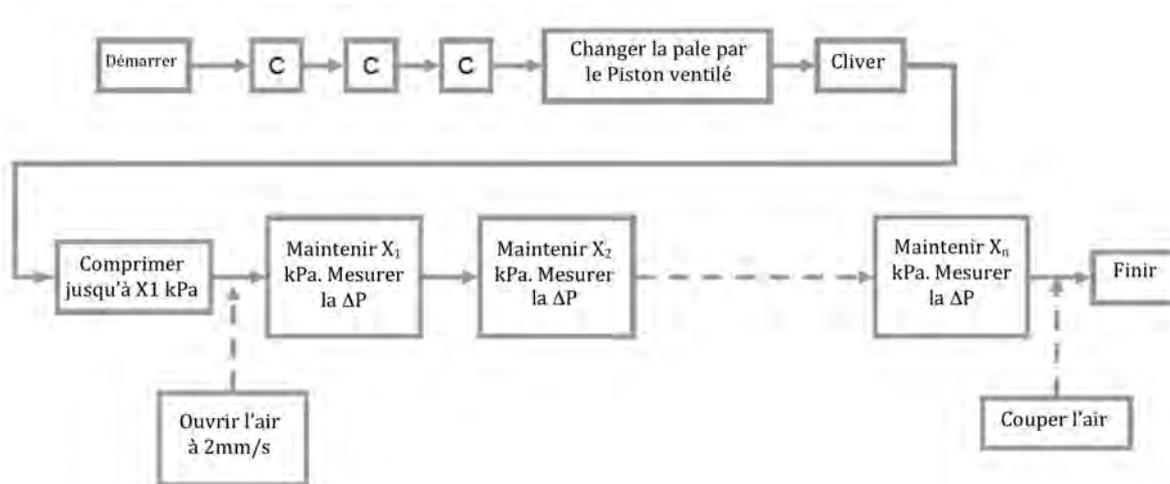


Figure B.12. Les cycles de mesure de la perméabilité

3.2.3 2.3 Test d'aération:



Figure B.13. Installation d'un test d'aération

Le test d'aération est réalisé en utilisant la cuve spéciale de 260 mL utilisée avec la pale d'hélice de 48 mm. L'air comprimé est introduit dans la cuve de façon contrôlée par l'unité de contrôle d'aération. L'installation d'un test d'aération est présentée dans la figure précédente.

Pour assurer la répétabilité des résultats, il est recommandé que les tests d'aération soient réalisés juste après le test dynamique. En plus, la quantité de poudre introduite dans la cuve pour le test d'aération est égale à la quantité de poudre restant dans la cuve après le clivage (pour les calculs ultérieurs).

Mode opératoire :

Après l'introduction de la poudre dans la cuve, le test est démarré par 2 cycles de conditionnement suivis par 1 cycle de mesure (phase de descente de la pale de l'hélice). Pour la mesure, la vitesse de pointe de la pale d'hélice est de 100 mm/s et l'angle rotatif d'hélice est de -5° .

L'air est ensuite introduit dans la cuve à des vitesses croissantes 2, 4, 6, 8 et 10 mm/s. À chaque vitesse d'air opérée, 2 cycles de conditionnement suivis par un cycle de mesure sont réalisés.

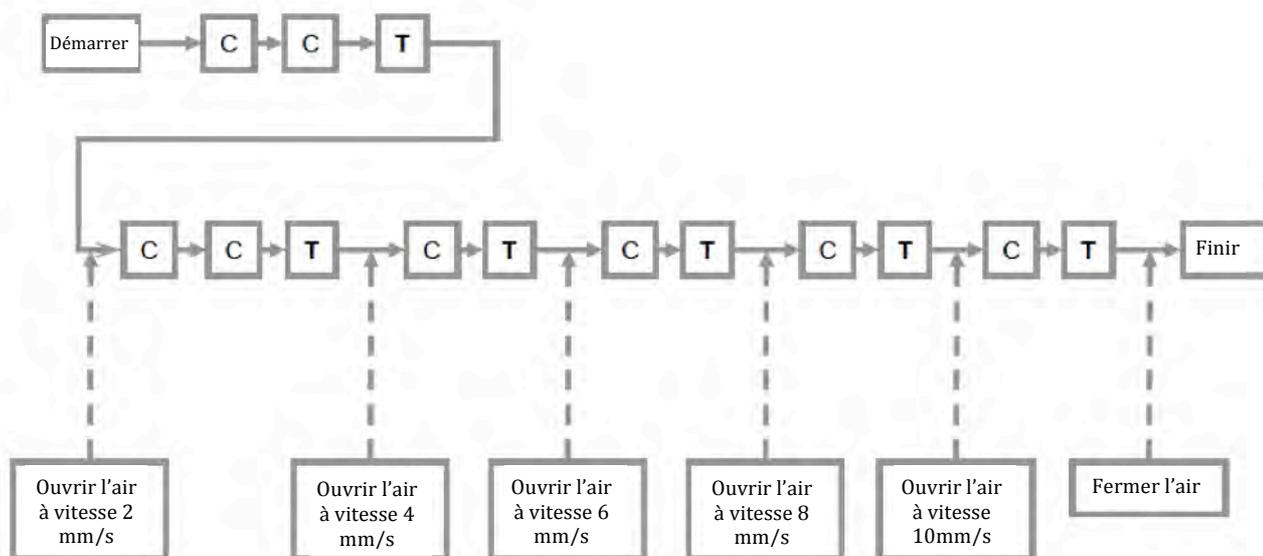


Figure B.14. Séquence de mesure pour le test d'aération. C : conditionnement, T : test (mesure)

Les paramètres exploités dans ce test sont :

- *L'énergie d'aération à n mm/s* : l'énergie d'écoulement mesurée lors de la descente de pale d'hélice à un débit d'air spécifique (n mm/s).
- *Le ratio d'aération (AR)* est défini comme le rapport entre l'énergie d'aération à 0 mm/s et l'énergie d'aération à n mm/s

IV. Mesure de la dispersion du principe actif par la technique du Spraytec®²⁴:



Figure B.15. Schéma d'un granulomètre Laser utilisant la technique Spraytec®

- (1) source de Laser (HeNe)
- (2) Collimateur
- (3) Zone de mesure
- (4) Transformation de Fourier
- (5) Anneaux de barrette diode en silicone (Détecteur)
- (6) Système d'acquisition

Conditions opératoires :

La technique Spraytec® est basée sur la diffraction laser en voie sèche. Environ 10 mg de principe actif sont pesés et introduits dans une capsule en gélatine de taille 3. L'aérosolisation de la poudre est réalisée au débit d'air de 90 L/min pendant 2,8 s via l'Inhalateur Handihaler (Boehringer). La gorge métallique (USP) est utilisée. La fréquence d'acquisition est de 500 Hz.

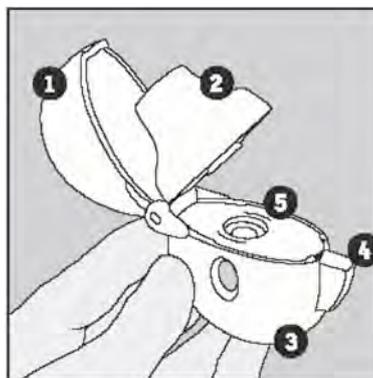


Figure B.16. Handihaler de Boehringer

REFERENCES

1. Direction de la qualité du médicament *Pharmacopée européenne*. 6.5. (2009).
2. Stevens, N., Shrimpton, J., Palmer, M., Prime, D. & Johal, B. Accuracy assessments for laser diffraction measurements of pharmaceutical lactose. *Meas. Sci. Technol.* **18**, 3697-3706 (2007).
3. Rick, J., Metcalfe, R. & Tse, Y.H. KARL FISHER APPARATUS AND ITS PERFORMANCE VERIFICATION. *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*, (2004).
4. Francise, R. & Annick, R. Méthodes voltampérométriques et coulométriques. *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales* 450-472 (2009).
5. Lecloux, A. Exploitation des Isothermes d'adsorption et de désorption d'azote pour l'étude de la texture des solides poreux. *Mémoires Société Royale des Sciences de Liège* **4**, 169-209 (1971).
6. Mercury porosimetry and effective networks for permeability calculations in porous materials - Permeability Length Scales and the Katz-Thompson Equation.
7. Webb, P.A. An Introduction to the Physical Characterization of Materials by Mercury Porosimetry with Emphasis on Reduction and Presentation of Experimental data. (2001).
8. Gillard, J. Porosimétrie et distribution porosimétrique. *Formes orales solides* 116-129 (1984).
9. Le Thiesse, J.C. Caractéristiques morphologiques et surfaciques des matières premières pulvérulentes. Evaluation et application. *S.T.P Pharma Sciences* **6**, 169-179 (1990).
10. Katz, A.J. & Thompson, A.H. Quantitative prediction of permeability in porous rock. *Phys. Rev. B* **34**, 8179 (1986).
11. Alderborn, G. & Nystrom, C. *Pharmaceutical Powder Compaction Technology*. (Informa Healthcare: 1995).
12. Kaye, B.H. Permeability techniques for characterizing fine powders. *Powder Technology* **1**, 11-22 (1967).
13. Merle, C., Gayot, A., Guyot, J.C. & Traisnel, M. Amelioration of the Determination of the Volume Specific Surface of Powders by Permeametry. *Acta Pharmaceutica Technologica* **25**, 1-8 (1979).
14. Merle, C., Gayot, A. & Traisnel, M. Application of permeametry to study the distribution of component in a ternary powder mixture. *International Journal of Pharmaceutical Technology and Product Manufacture* **5**, 25-28 (1984).
15. European Pharmacopeia Specific Surface Area by Air Permeability. *European Pharmacopeia* 284-295 (2008).
16. Merle, C., Gayot, A., Guyot, J.C. & Traisnel, M. Application of Permeametry to the study of Behaviour of Mixture. *Acta Pharmaceutica Technologica* **25**, 193-201 (1979).
17. Airiau, M. Caractérisation de la surface et morphologie des poudres. *Formulation des solides divisés*: Des procédés aux propriétés d'usage 15-32 (2009).
18. Flament, M.-P., Leterme, P. & Gayot, A. The influence of carrier roughness on adhesion, content uniformity and the in vitro deposition of terbutaline sulphate from dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics* **275**, 201-209 (2004).
19. Document technique de PFA (Powder Flow Analysis).
20. Freeman, T. & Price, R. Dynamic Powder Characterisation for DPI formulations. *Drug Delivery Technology* 50-55 (2009).
21. Freeman, R. Measuring the flow properties of consolidated, conditioned and aerated powders — A comparative study using a powder rheometer and a rotational shear cell. *Powder Technology* **174**, 25-33 (2007).

22. Freeman, R.E., Cooke, J.R. & Schneider, L.C.R. Measuring shear properties and normal stresses generated within a rotational shear cell for consolidated and non-consolidated powders. *Powder Technology* **190**, 65-69 (2009).
23. Freeman, T. & Price, R. Fine Tuning DPI Formulas. *Manufacturing Chemist* 42-44 (2008).
24. Pilcer, G., Vanderbist, F. & Amighi, K. Correlations between cascade impactor analysis and laser diffraction techniques for the determination of the particle size of aerosolised powder formulations. *International Journal of Pharmaceutics* **358**, 75-81 (2008).

PARTIE C
RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Chapitre 1

**DRY POWDER INHALERS: STUDY OF THE
PARAMETERS INFLUENCING ADHESION AND
DISPERSION OF FLUTICASONE PROPIONATE**

V.N.P. LE¹, T.H. HOANG THI¹, E. ROBINS², M.P. FLAMENT^{1,*}

*¹College of Pharmacy, JE 2491, Univ. Lille Nord de France, 3, Rue du Professeur Laguesse,
BP 83, 59006 Lille, France*

²APTAR PHARMA, Route des Falaises, BP 37, 27100 Le Vaudreuil, France

(Article soumis)

*Correspondence

Dr. Marie-Pierre Flament

College of Pharmacy, JE 2491

Univ. Lille Nord de France

3 rue du Professeur Laguesse

59006 Lille, France

Phone : + 33 3 20964974

Fax : + 33 3 20959009

marie-pierre.flament@univ-lille2.fr

Abstract

Interactions between particles are dependent on the physicochemical characteristics of the interacting particles but it is also important to consider the manufacturing process. Blending drug with carrier is a critical stage that determines the blend homogeneity and is the first step towards obtaining the final quality of the powder blend. The aim of this work was to study parameters that influence the interactions between drug and carrier in adhesive mixtures used in dry powder inhalers and their effect on drug dispersion. The study was done with fluticasone propionate blended with lactose Lactohale 200. The study was based on the influence of the operating conditions (speed, mixing time, resting steps during mixing), the size of the carrier and the storage conditions on the blend properties and on the drug dispersion. The quality of the blends was examined by analyzing the drug content uniformity. Adhesion characteristics were evaluated by submitting mixtures to a sieving action by air depression with the Alpine air-jet sieve. Aerodynamic evaluation of fine particle fraction was obtained using a Twin Stage Impinger. For good dispersion and therefore good homogeneity of the drug in the carrier particles, speed and powder blending time have to be sufficient, but not too long to prevent the apparition of static electricity, which is not favourable to homogeneity and stability. The fine particle fraction increases with the decrease in the carrier size. The storage conditions have also to be taken into consideration. Higher humidity favours the adhesion of drug on the carrier and decreases the fine particle fraction.

1. Introduction

Particle interactions are of great importance in dry powder inhaler formulation where the dispersion of drug particles from carrier particles is critical for lung deposition. Interactions between particles are dependent on the physicochemical characteristics of the interacting particles. In one hand, the adhesion force must be strong enough to maintain the blend homogeneity during manufacturing process. In other hand, it must first be overcome by inhalation flow to allow detachment in order to effectively deposit fine drug into the lung. Various studies have extensively investigated the factors influencing the interaction forces, such as carrier surface roughness (1,2), carrier size (3,4), particle morphology (5-7), carrier material (8,9), environmental humidity (10,11), presence of excipient fines (12,13) and other formulation characteristics.

The manufacturing process is also important to consider. Blending drug with carrier is a critical stage that determines the blend homogeneity and is the first step to obtain the final quality (14, 15). Various blending options are available to the formulator. These include: low-energy tumbling blending; high-energy blending, with paddles or impeller blades actively cutting the powder bed and redistributing powder within the blending vessel (16). The blending process employed can influence the dispersion behaviour of the final formulation. In case of inhalation products, individual drug particles will have aerodynamic diameters within the respirable range, whereas agglomerates will not. Thus these factors influence the lung dose of inhalation products. In the mixing of cohesive powder, coarse particles act as nuclei, which are coated with a single layer of fine particles. If fine particles were in excess it was assumed that they would agglomerate in a similar way around a nucleus of a fine particle (17). The kinetic of mixing process of micronized cohesive API with carrier in tumbling mixer was studied and compared with the dissolution of final product. An increase in mixing time led to an increase in dispersion. An initial fast de-agglomeration, indicated by an increase in dissolution, an increase in content uniformity and a decrease in particle size, was followed by substantially slower de-aggregation of remaining agglomerates and smaller aggregates. Increases in mixing time and mixing speed can enhance the de-agglomeration kinetic (18-19). However, precautions must be taken because the adhesive tendency of drug particles in a model drug –carrier system increases with blending time. Under the influence of shear forces within a mixer, drug would

progressively move to position of greatest stability (20). The presence of fine particles in the formulation can improve the dispersion of drug in interactive mixture. Interestingly, different mixing sequences were also shown to result in different deposition profiles of drug (21-22). The addition of fine particles of lactose also reduces the electrostatic charge of coarse lactose particles (23).

During mixing process, the frictions between particles or with the blender surface induce electrostatic charges on the particle surface, which can affect tremendously the quality of blend, such as homogeneity and segregation tendency (24-25). The decay rate of surface static charges depends on the environmental humidity and material natures (26). Thus, the mixing time and a rest time during mixing could influence the blend quality. Despite significant importance of mixing parameters, there is a limited understanding of how blending process affects the aerodynamic performance of inhalation products.

Relative humidity also plays a major role in DPI performance since the adsorption of water on the surface of a powder will have a significant impact on the capillary forces, solid bridge formation and electrostatic forces (27). An increase in relative humidity in the range 0-86% produces a corresponding decrease in charge and adhesion values for drug, lactose and DPI formulation during triboelectrification with mixing vessel surface (28).

The aim of this work was to study parameters which predominantly influence the interactions between drug and carrier in adhesive mixtures used in dry powder inhalers and their effect on drug dispersion. Influences of the operating conditions (speed, mixing time, rest time during mixing), size of the carrier and storage conditions on the blend properties and on the drug dispersion were studied.

2. Material and methods

2.1. Materials

Lactohale 200 (Friesland Foods Domo, Zwolle, The Netherlands) and micronized fluticasone propionate supplied by APTAR PHARMA (Le Vaudreuil, France) were used as supplied. The powder formulation was manually weighted and filled in the hard gelatine capsules (size 2) (Capsugel, Colmar, France). The device for aerodynamic performance test is the Inhalator Ingelheim (Boehringer Ingelheim, Ingelheim and Rhein, Germany).

The Lactohale 200 used presents a mean diameter of 62.8 μm , a median diameter of 54.3 μm and 10 % of particles are below 6.1 μm (size distribution obtained by laser scattering Mastersizer S). Three granulometric fractions of this Lactohale 200 (blends 11-13) were obtained after passage through an Alpine air-jet sieve.

2.2. Blending lactose with fluticasone propionate

Lactohale 200, used as the carrier, was mixed with 2.5% (w/w) of fluticasone propionate in a batch size of 100 g using a Turbula tumbling mixer (Bachofen Maschinenfabrik, Basel, Switzerland). Table 1 presents the different blends manufactured and tested.

Table 1: Operating conditions of the blends (rpm=rotation per minute)

Blend	Carrier	Mixing Speed	Mixing time
1	Lactohale 200	54 rpm	60 min
2	Lactohale 200	74 rpm	60 min
3	Lactohale 200	90 rpm	60 min
4	Lactohale 200	100 rpm	60 min
5	Lactohale 200	90 rpm	180 min
6	Lactohale 200	90 rpm	120 min
7	Lactohale 200	90 rpm	120+30+30 min
8	Lactohale 200	90 rpm	60+30 min
9	Lactohale 200	90 rpm	90+30 min
10	Lactohale 200	90 rpm	120+30 min
11	Lactohale 200 : 32-40 μm fraction	90 rpm	180 min
12	Lactohale 200 : 40-63 μm fraction	90 rpm	180 min
13	Lactohale 200 : 63-125 μm fraction	90 rpm	180 min

For blends 6 to 9, a 24 h rest time is observed between the different mixing times. All blends were analysed 24h after the end of mixing to limit the electrostatic effects.

2.3. Flow properties

The powder flow was tested using the angle of repose method described in the European Pharmacopoeia (29). The angle of repose is the constant, three-dimensional angle (relative to the horizontal base) assumed by a cone-like pile of material formed. It is determined by allowing an excess quantity of material (25 g) positioned above a fixed diameter base to "drain" from a funnel (8 mm diameter) fixed at 6 cm from the base.

Angles of repose of less than 30 degrees indicate excellent flow characteristics; values beyond 45 degrees indicate poor powder flowability. Each measurement was done in triplicate.

2.4. Preparation of the capsules

The lactose / drug blends were filled into hard gelatine capsules manually so that each capsule contains 20 mg of blend that is to say 500 µg of fluticasone propionate.

2.5. Measurement of drug content and content uniformity

The quality of blends was assessed by analysing the quantity of drug in aliquots of 20 mg sampled powder which is the amount of powder in each capsule. Ten aliquots were taken randomly from each powder blend and assayed using HPLC (ProStar 230, Varian, Paris, France) with a Pursuit C18 column (150 x 4.6 mm, 5 µm) according to an internal method of APTAR Pharma. The drug is detected UV spectrophotometrically at a wavelength of 236 nm. From the ten results of drug content in the samples, the average drug content in blend and the mean recovery related to the nominal dose were calculated. The variation coefficient was used to assess the content uniformity of each blend.

2.6. Evaluation of adhesion characteristics

To assess the adhesion of respirable sized drug to carrier particles, a simple method was developed, based on aspiration and considering the whole blend as it is used in dry powder inhalers. Adhesion characteristics are evaluated by submitting the mixtures to a sieving action by air depression with the Alpine air-jet sieve. 30 g of blend were put on

the 32 μm sieve section of the Alpine air-jet apparatus, in a sealed enclosure. Particles are submitted on the one hand to an airflow released by a blow nozzle rotating under the sieve and, on the other hand, to aspiration through the sieve. The drug particles that are detached from the carrier and suspended in air are carried through the sieve thanks to aspiration. Three samples of 20 mg were removed from the powder bed after sieving for different lengths of time: 5, 30, 60 and 150 seconds. For each sample, the percentage of remaining drug was compared to the initial dose, which is an indicator of the quantity of drug that adheres to the carrier. Indeed, if the drug particles were separated from the carrier, they would be carried away through the sieve by aspiration. Temperature and relative humidity were controlled at 20°C and 40-45% for all experiments.

2.7. Aerodynamic evaluation of fine particle dose and emitted dose

In vitro deposition of drug from dry powder formulations was determined using a twin stage impinger (TSI, Apparatus A, European Pharmacopoeia, 2009). The TSI was assembled and loaded with 7 ml and 30 ml of solvent in the upper and lower stage respectively. Each deposition experiment involved the aerosolization at 60 l/min via an Inhalator Ingelheim of 5 capsules containing 20 mg of blend i.e. 500 μg of drug. The different parts of the TSI were rinsed and the amount of drug deposited in the upper and lower stage was determined.

For each blend, the assays were performed in triplicate and the following parameters were used to characterize the deposition profiles of the drug:

- the emitted dose (ED), which is the sum of drug collected at upper and lower stages, divided by the number of capsules tested,
- the fine particle dose (FPD) defined as the amount of drug deposited in the lower stage of the TSI, because their aerodynamic diameter was less than the cut-off diameter of the TSI (6.4 μm at an air-flow rate of 60 l/min), divided by the number of capsules tested,
- the percentage emission calculated as the ratio of ED to the average content and
- the fine particle fraction calculated as the ratio of FPD to the emitted dose.

Temperature and relative humidity were controlled at 20°C and 40-45% for all experiments.

A statistical ANOVA F test was applied to the results obtained with TSI.

2.8. Stability of the blends

To study the influence of the storage conditions, capsules containing the blends were stored in glass bottle placed in different conditions of temperature and humidity, that is to say: 20°C/12% RH, 20°C/40% RH, 20°C/65% RH and 40°C/75% RH. Content uniformity and aerodynamic evaluation of fine particle dose were determined after 1 and 3 months. We also compared the performance when the capsules were stored in open or sealed glass bottles.

3. Results and discussion

3.1. Influence of mixing speed

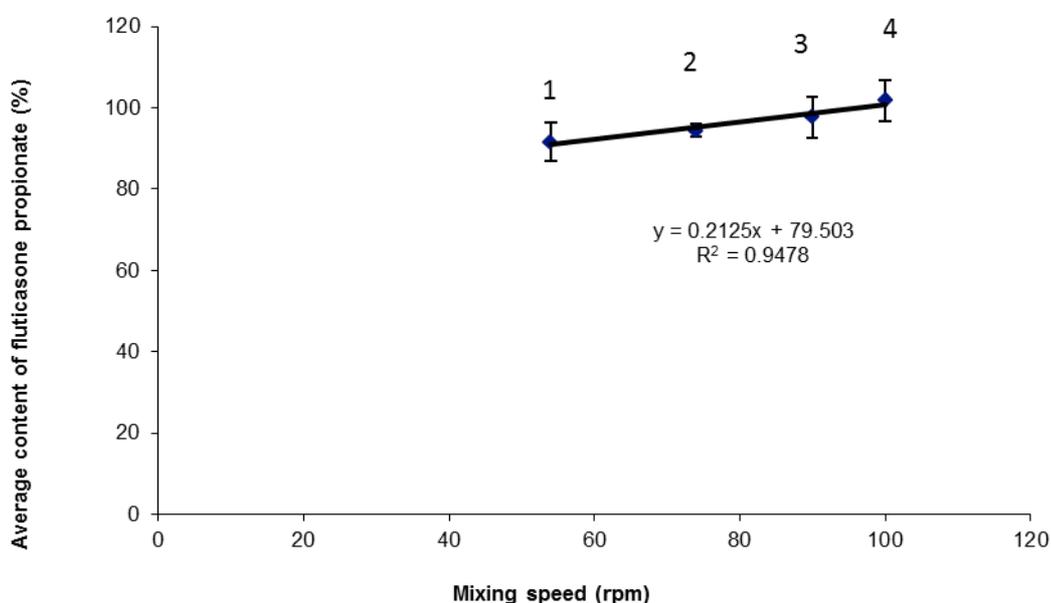


Figure 1 Influence of mixing speed on average fluticasone content in blend (mixing time = 60 minutes). The numbers indicated on the figure refer to the blend number.

To study the influence of the mixing speed, the mixing time was the same and fixed to 60 minutes. The comparison of blends 1, 2, 3 and 4 shows that increasing the speed of mixing increases the fluticasone average content (probably because of a better deaggregation and dispersion of the drug) and the uniformity (figure 1). There is a linear relationship ($R^2 = 0.9906$) between these two parameters. The speed favours the dispersion of the drug particles in the blend. The forces involved during the collisions

between particles exceed the cohesion forces between the fluticasone particles. This is in agreement with Sebti et al. who indicated that the achievement of a homogeneous mixture from a composition containing a low-dose, cohesive active drug and coarse excipients requires the use of “powerful” shear mixers that break down the aggregates so that the adhesive forces (drug-carrier interaction) exceed the cohesive forces (drug-drug interaction) between the fine particles (30).

3.2. Influence of mixing time

To study the influence of the mixing time, the speed was fixed to 90 rpm. The results are presented on figure 2. The numbers indicated on figure 2 refer to the blend number.

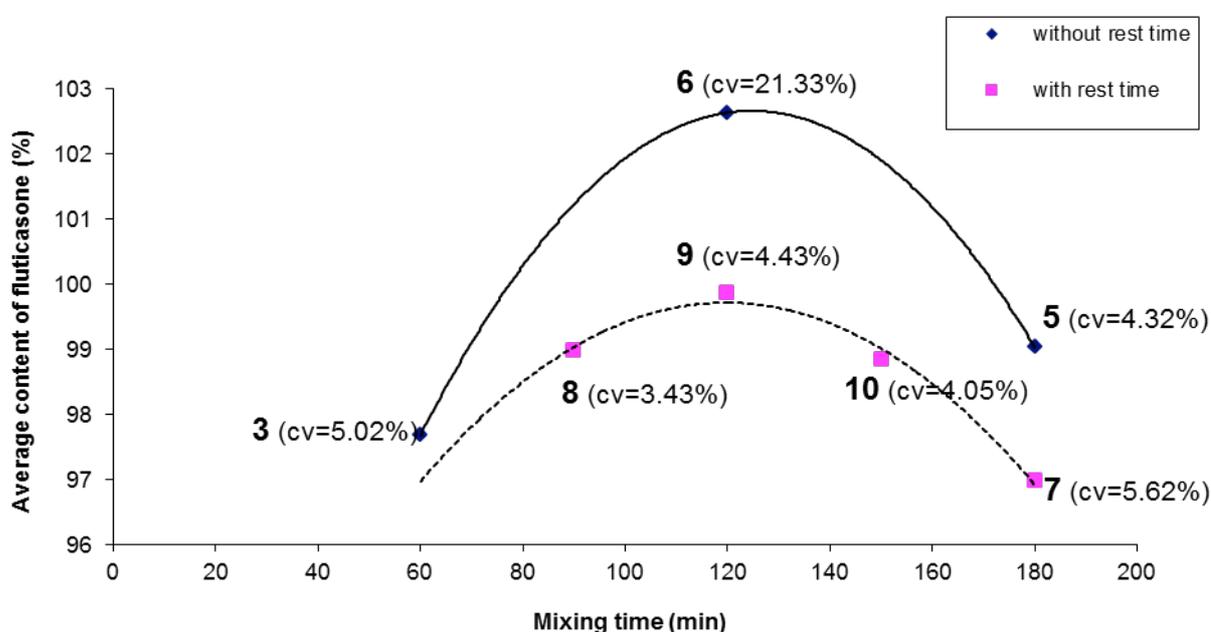


Figure 2 Influence of mixing time on average fluticasone content and blend uniformity. The numbers indicated on the figure refer to the blend number.

Mean drug contents of the blends are rather close (ANOVA, p-value = 67.8%). However, a mixing time of 120 minutes without rest time (blend 6) gives the lowest homogeneity with a very high coefficient of variation (21.33%); this blend significantly differs from other blends (f-test, p-value < 0.05). The other blends are not significantly different (f-test, p-value > 0.05).

A pause during the mixing operation seems to improve the content uniformity (dash line) since the variations are lower. This is clearly observed when comparing blends 6

(without rest) and 9 (with rest) (f-test, p-value < 0.05). This could be explained by a decrease of static electricity. Indeed, during mixing, particles rub themselves and against the blender surface which favours tribo-electrification. During rest time, particle charges could decrease leading to a decrease of the cohesion forces and a better repartition of the drug particles. But too long mixing time and rest time do not improve the result. Thus, blend 5 (180 min. without rest) and blend 7 (180 min., 2 rest times) are not significantly different (f-test, p-value > 0.05).

Drug content close to 100% and lowest coefficients of variation are obtained for blends 5, 8, 9 and 10 that are comparable.

3.3. Influence of the carrier size

Table 2: Aerodynamic performance of blends

Blend	Emitted dose (%)	Fine Particle Fraction (%)
2	84.80 (± 5.36)	37.63 (± 0.77)
4	81.82 (± 3.06)	42.99 (± 11.20)
5	86.22 (± 2.55)	32.01 (± 2.33)
7	79.52 (± 1.77)	40.28 (± 0.19)
8	79.18 (± 3.31)	37.00 (± 1.94)
9	80.43 (± 1.26)	37.91 (± 2.05)
10	83.42 (± 1.47)	37.95 (± 3.92)
11	75.26 (± 3.53)	21.13 (± 0.93)
12	73.64 (± 2.27)	16.14 (± 0.31)
13	77.90 (± 3.37)	11.42 (± 0.45)

Table 2 presents the aerodynamic performance of the different blends. Blends 11, 12, 13 realised with granulometric fractions of Lactohale 200 and containing no particle below

32 μm present fine particle fractions much lower than those of the blends containing the total Lactohale 200. The decrease in the aerodynamic performance is probably due to the absence of fine particles of lactose. Two theories exist about the role of the fine particles of lactose. The first one supposes the occupation of the high energy sites on the carrier by the lactose fine particles leaving low energy sites available for the drug, thus enabling greater drug detachment. In the second theory also called redistribution theory, aggregates of drug and lactose fine particles termed multiplets are formed enabling greater drug detachment (21, 31-33).

The absence of fine particles of lactose influences the flowability evaluated by the angle of repose. The angles of repose are respectively 41.95 (± 1.67), 33.22 (± 1.52) and 28.52 (± 1.07) for the blends 11, 12 and 13. The flowability decreases when the size decreases. Interestingly, we observe a linear relationship when plotting the fine particle fractions against the angle of repose (figure 3). Higher fine particle fractions are obtained when the flowability is lower that is to say when the carrier size is lower.

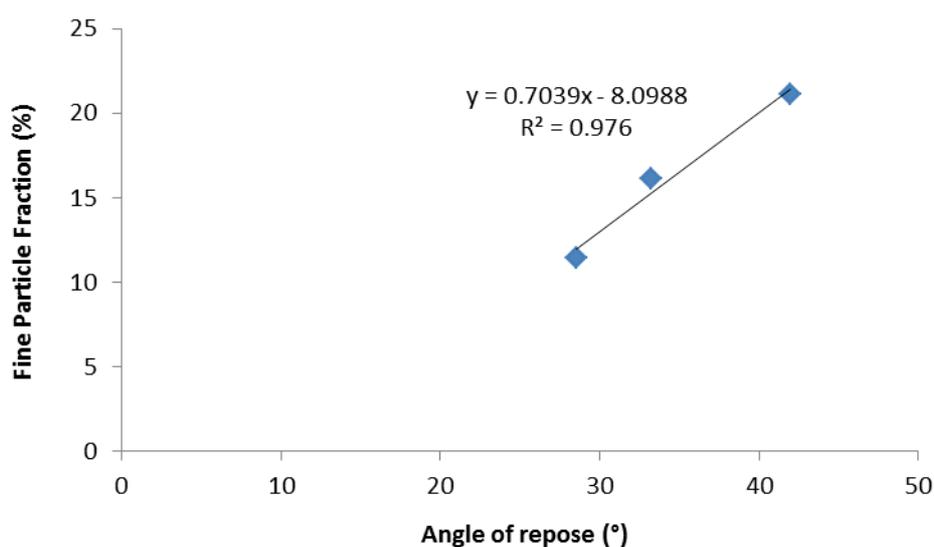


Figure 3: Relation between Fine Particle Fraction and Angle of repose of fractions of Lactohale 200

The influence of the size of the carrier on the drug adhesion was studied.

During the evaluation of adhesion characteristics, when blends are submitted to the Alpine air-jet sieve, drug is rapidly carried away by the airflow. The evolution with aspiration time shows drug detachment but the totality of the fluticasone propionate does not separate from the lactose, with variations according to the mixing conditions.

For example, figure 4 presents the percentage of fluticasone propionate remaining fixed on the carrier (Lactohale 200 or granulometric fractions of Lactohale 200) in relation to time of the Alpine air-jet sieving for the blends made with different carrier sizes. The fluticasone propionate is rapidly carried away by the airflow. With the 63-125 μm lactose fraction, adhesion of fluticasone seems to be higher.

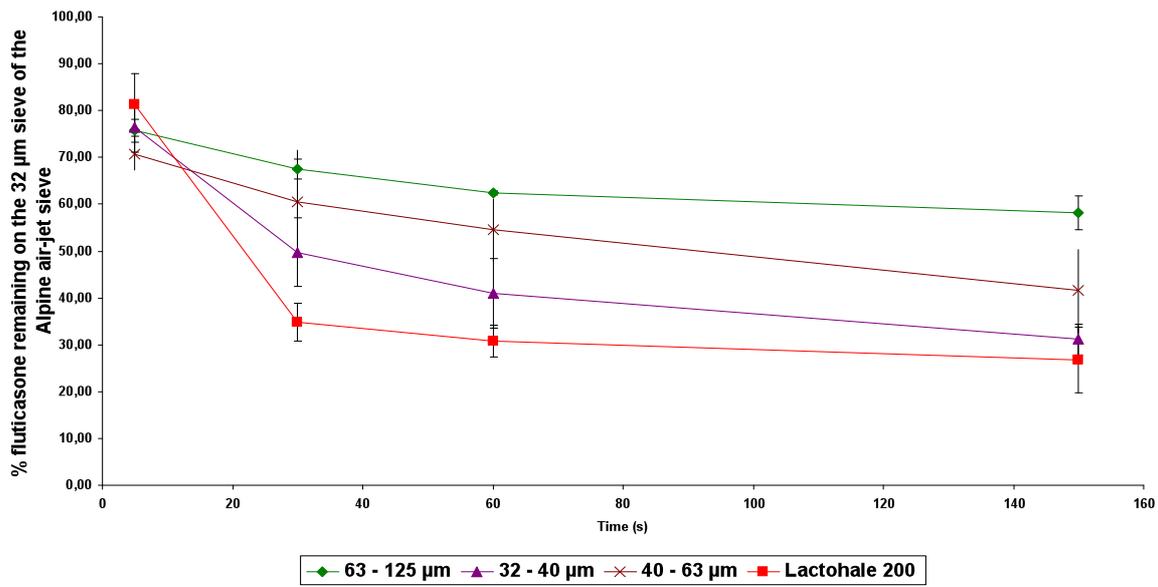


Figure 4 Percentage of fluticasone propionate remaining fixed onto the carrier in relation to the functioning time of the air-jet sieve.

The results of drug separation from the carrier by sieving with the Alpine air-jet sieve were compared with those obtained from in vitro impaction studies with the TSI. Figure 5 represents the relationship between fine particle fraction and the percentage of fluticasone propionate remaining on the 32 μm sieve of the air-jet sieve after 30 seconds. A linear relationship was noted between them with a coefficient r^2 of 0.9921 which indicates a good correlation between these two parameters. The fine particle fraction increases when the carrier size decreases (34). This could be explained by the fact that the coarser carrier particles present areas that could trap the drug particles and prevent their liberation from the carrier. The highest fine particle fraction is obtained with the Lactohale 200 which possesses fine particles of lactose (10% of the particles are below 6.1 μm). These fine particles of lactose could be fixed on the higher energy sites of the Lactohale 200 which limits the adhesion of the fine particles of drug and makes their dispersion easier.

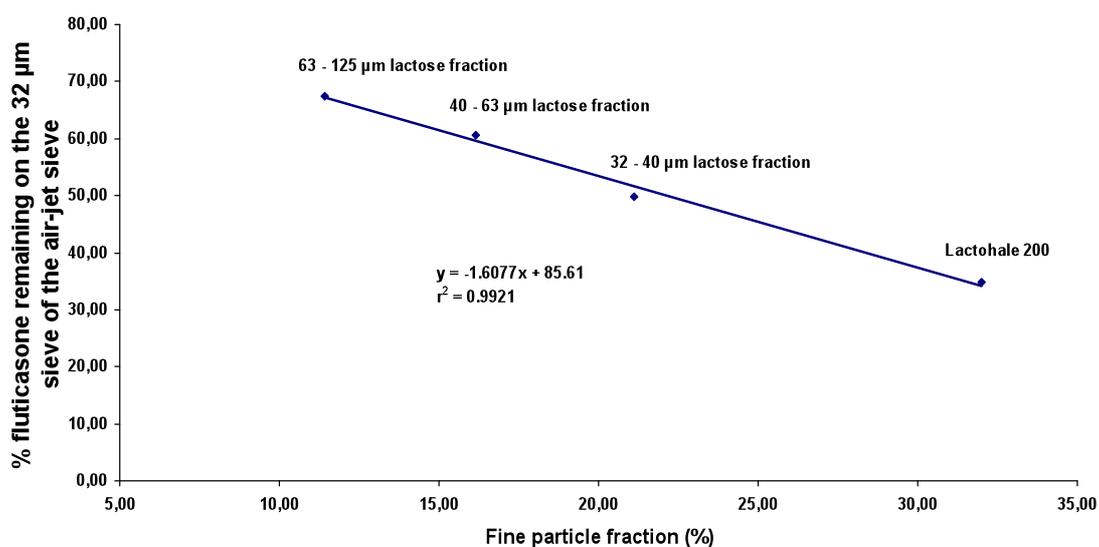


Figure 5 Relation between the fine particle fraction and the percentage of fluticasone remaining on the 32 µm sieve of the air-jet sieve after 30 s

3.4. Stability of the formulations

Table 3 presents the influence of the storage time on the aerodynamic performance of blend 2. After three months the fine particle fractions are not significantly different between the 20°C/12% RH, 20°C/40% RH and 20°C/65% RH conditions (ANOVA, $p > 0.05$) but they are lower in the case of the 40°C/75% RH conditions. This is in agreement with another piece of work showing that the increase of relative humidity increases the adhesion force between drug and carrier (35).

Table 3: Influence of storage time on aerodynamic performance of blend 2

	Emitted dose (%)		Fine Particle Fraction (%)	
	After 1 month	After 3 months	After 1 month	After 3 months
20°C/12% HR	82.63 (± 1.87)	79.01 (± 1.0)	34.28 (± 0.90)	32.30 (± 1.39)
20°C/40% HR	84.97 (± 2.04)	82.24 (± 6.55)	35.11 (± 2.10)	29.39 (± 4.14)
20°C/65% HR	85.02 (± 1.26)	79.58 (± 2.09)	38.88 (± 3.82)	30.97 (± 0.17)
40°C/75% HR	84.06 (± 2.82)	79.64 (± 1.07)	32.07 (± 3.81)	26.88 (± 0.20)

To study the influence of the storage conditions the aerodynamic performance is compared when the capsules are stored in sealed or open glass bottles, under different conditions of temperature and humidity (table 4). Variations of the emitted doses are very low. With regard to fine particle fraction, it decreases a lot when the humidity increases, particularly when bottles are open. The incidence of the opening only appears when the humidity is higher than 65%. The humidity could strengthen the adhesion between the drug and the carrier and therefore decrease the dispersibility of the drug.

Table 4: Influence of storage conditions on aerodynamic performance of blend 10

	Emitted dose (%)		Fine Particle Fraction (%)	
	Sealed bottle	Open bottle	Sealed bottle	Open bottle
20°C/12% HR	80.57 (± 1.03)	82.55 (± 2.2)	33.02 (± 5.34)	37.34 (± 3.2)
20°C/40% HR	81.51 (± 2.4)	82.02 (± 2.3)	36.62 (± 3.39)	37.12 (± 3.14)
20°C/65% HR	82.32 (± 0.81)	83.33 (± 1.1)	38.35 (± 2.0)	30.68 (± 2.17)
40°C/75% HR	80.22 (± 0.27)	78.26 (± 1.3)	29.89 (± 1.55)	17.70 (± 3.90)

4. Conclusion

The speed, the mixing time as well as the rest time between several phases of mixing influence the blend homogeneity but also the adhesion characteristics and therefore the drug detachment from the carrier, hence product performance. Speed and blending time have to be sufficient for good dispersion of drug particle within powder blend, therefore good homogeneity of the drug among the carrier particles, but not too high to prevent an excessive adhesion of the drug on the carrier. Indeed, under extensive blending, drug particles would progressively move to positions of greatest stability, although an increased triboelectrification of the particles may also contribute to the increased adhesion (36).

The fine particle fraction of fluticasone increases with the decrease in the carrier size. The storage conditions have also to be taken into consideration. A higher humidity favours the adhesion of fluticasone propionate on the carrier and decreases the fine particle fraction.

References

1. Young PM, Roberts D, Chiou H, et al. Composite carriers improve the aerosolisation efficiency of drugs for respiratory delivery. *Journal of Aerosol Science*. 2008;39(1):82-93.
2. Flament M-P, Leterme P, Gayot A. The influence of carrier roughness on adhesion, content uniformity and the in vitro deposition of terbutaline sulphate from dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;275(1-2):201-209.
3. Kassem NM, Ganderton D. Dry Powder Inhalers. In: *Advances in Pharmaceutical Sciences*. Vol 6. London: Academic Press; 1992:165-191.
4. Islam N, Stewart P, Larson I, Hartley P. Effect of carrier size on the dispersion of salmeterol xinafoate from interactive mixtures. *J. Pharm. Sci*. 2004;93(4):1030-1038.
5. Vanbever R, Mintzes JD, Wang J, et al. Formulation and physical characterization of large porous particles for inhalation. *Pharm. Res*. 1999;16(11):1735-1742.
6. Hassan MS, Lau R. Inhalation performance of pollen-shape carrier in dry powder formulation with different drug mixing ratios: Comparison with lactose carrier. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010;386(1-2):6-14.
7. Zeng XM, Martin GP, Marriott C, Pritchard J. The influence of carrier morphology on drug delivery by dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000;200(1):93-106.
8. Steckel H, Bolzen N. Alternative sugars as potential carriers for dry powder inhalations. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004;270(1-2):297-306.
9. Saint-Lorant G, Leterme P, Gayot A, Flament MP. Influence of carrier on the performance of dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007;334(1-2):85-91.
10. Jashnani RN, Byron PR. Dry powder aerosol generation in different environments: Performance comparisons of albuterol, albuterol sulfate, albuterol adipate and albuterol stearate. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996;130(1):13-24.
11. Jashnani RN, Byron PR, Dalby RN. Testing of dry powder aerosol formulations in different environmental conditions. *International Journal of Pharmaceutics*. 1995;113(1):123-130.
12. Jones MD, Price R. The Influence of Fine Excipient Particles on the Performance of Carrier-Based Dry Powder Inhalation Formulations. *Pharm Res*. 2006;23(8):1665-1674.
13. Zeng XM, Martin GP, Tee S-K, Marriott C. The role of fine particle lactose on the dispersion and deaggregation of salbutamol sulphate in an air stream in vitro. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998;176(1):99-110.

14. Food & Drug Administration (1998), "Guidance for industry metered dose inhaler (MDI) and dry powder inhaler (DPI) drug products"
15. Bridson R.H., Robbins P.T., Chen Y., Westerman D., Gillham CR., Roche TC., Seville JPK. (2007), "The effects of high shear blending on alpha-lactose monohydrate", *Int.J.Pharm.*, 339, 84-94
16. Price R. Low and High Shear Blending. In: Lactose as a carrier for inhalation products. Parma, Italy; 2010.
17. Harnby N. The mixing of cohesive powders. In: *Mixing in the Process Industries*. Oxford: Butterworth-Heinemann; 1997:79-98.
18. Kale K, Hapgood K, Stewart P. Drug agglomeration and dissolution - What is the influence of powder mixing? *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2009;72(1):156-164.
19. de Villiers MM. Description of the kinetics of the deagglomeration of drug particle agglomerates during powder mixing. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997;151(1):1-6.
20. Kulvanich P, Stewart PJ. The effect of blending time on particle adhesion in a model interactive system. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1987;39(9):732-733.
21. Zeng XM, Martin GP, Tee S-K, Ghoush AA, Marriott C. Effects of particle size and adding sequence of fine lactose on the deposition of salbutamol sulphate from a dry powder formulation. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999;182(2):133-144.
22. Zeng XM, Pandhal KH, Martin GP. The influence of lactose carrier on the content homogeneity and dispersibility of beclomethasone dipropionate from dry powder aerosols. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000;197(1-2):41-52.
23. F. S. Bennett, P. A. Carter, G. Rowley, Y. Dandiker. Modification of Electrostatic Charge on Inhaled Carrier Lactose Particles by Addition of Fine Particles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1999;25(1):99-103
24. Staniforth JN. Performance-Modifying Influences in Dry Powder Inhalation Systems. *Aerosol Science and Technology*. 1995;22:346-353.
25. Staniforth JN. Advances in Powder Mixing and Segregation in Relation to Pharmaceutical Processing. *Int. J. Pharm. Tech. & Prod. Manfr.* 1987;3(Supplement):1-12.
26. Carter PA, Rowley G, Fletcher EJ, Stylianopoulos V. Measurement of Electrostatic Charge Decay in Pharmaceutical Powders and Polymer Materials Used in Dry Powder Inhaler Devices. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1998;24(11):1083-1088.
27. Das S, Larson I, Young P, Stewart P. Agglomerate properties and dispersibility changes of salmeterol xinafoate from powders for inhalation after storage at high relative humidity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009;37(3-4):442-450.

28. Elajnaf A, Carter P, Rowley G. Electrostatic characterisation of inhaled powders: Effect of contact surface and relative humidity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006;29(5):375-384.
29. European Pharmacopoeia, 2010, "2.9.36. Powder flow", p 5107
30. Sebti T., Vanderbist F., Amighi K. (2007), "Evaluation of the content homogeneity and dispersion properties of fluticasone DPI compositions", *J. Drug del. Sci. Tech.*, 17 (3), 223-229
31. Adi, H., Larson, I., Chiou, H., Young, P., Traini, D., Stewart, P., 2006. Agglomerate strength and dispersion of salmeterol xinafoate from powder mixtures for inhalation. *Pharm. Res.* 23(11), 2556-2565
32. Larhrib, H., Zeng, X.M., Martin, G.P., Marriott, C., Pritchard, J., 1999. The use of different grades of lactose as a carrier for aerosolised salbutamol. *Int. J. Pharm.* 191, 1-14
33. Lucas, P., Clarke, M.J., Anderson, K., Tobyn, M.J., Staniforth, J.N., 1998. The role of fine particle excipients in pharmaceutical dry powder aerosols. In: Dalby, R.N., Byron, P.R., Farr, S.J. (Eds.), *Proceedings of Respiratory Drug Delivery VI*. Interpharm, Buffalo Grove, IL, pp. 243 -250
34. Steckel H., Muller B.W. (1997), "In vitro evaluation of dry powder inhalers II: influence of carrier particle size and concentration on in vitro deposition", *Int. J. Pharm.*, 154, 31-37
35. Berard V., Lesniewska E., Andrès C., Pertuy D., Laroche C., Pourcelot Y. (2002), "Dry powder inhaler : influence of humidity on topology and adhesion studied by AFM", *Int. J. Pharm.*, 232, 213-224
36. Zeng X.M., Martin G.P., Marriott C. (2001), "Particulate Interactions in Dry Powder Aerosols" in "Particulate Interactions in Dry Powder Formulations for Inhalation", Taylor & Francis Editor, London and New York, p 162

Chapitre 2
IN VITRO EVALUATION OF POWDERS FOR
INHALATION: THE EFFECT OF DRUG CONCENTRATION
ON PARTICLE DETACHMENT

V.N.P. LE^{1,2}, T.H. HOANG THI^{1,2}, E. ROBINS³, M.P. FLAMENT^{1,2*}

¹University Lille Nord de France, College of Pharmacy, 59006 Lille, France

²INSERM 1008, Controlled Drug delivery Systems and Biomaterials, 59006 Lille, France

³APTAR PHARMA., Route des Falaises, BP 37, 27100 Le Vaudreuil, France

(Article soumis)

*Correspondence

Dr. Marie-Pierre Flament

College of Pharmacy, JE 2491

Univ. Lille Nord de France

3 rue du Professeur Laguesse

59006 Lille, France

Phone : + 33 3 20964974

Fax : + 33 3 20959009

marie-pierre.flament@univ-lille2.fr

Abstract

Limited information on the effect of the drug concentration on the performance of powders for inhalation is currently published. The aim of this work was to study the influence of drug concentration on the adhesion between drug and carrier and on the drug detachment from the carrier. The study was done with formoterol fumarate and fluticasone propionate blended with lactose Lactohale 200. To assess the adhesion of respirable-sized drug to carrier particles, a simple method was developed based on aspiration and considering the whole blend as it is used in dry powder inhalers. Adhesion characteristics were evaluated by submitting the mixtures to a sieving action by air depression with an Alpine air-jet sieve. Aerodynamic evaluation of fine particle dose and emitted dose was obtained using a Twin Stage Impinger (TSI). Drug concentration of powder blends used in dry powder inhalers influenced adhesion, content uniformity and in vitro deposition of the drug. For the higher concentration of formoterol, it seemed that a lower quantity of drug adhered to the lactose. This was confirmed by the aerosolization assays done in the TSI. The fine particle fraction increased linearly with the formoterol concentration. A correlation was observed between adhesion characteristics and inertial impaction. In the case of fluticasone, the influence of the concentration was different. First, the fine particle fraction increased with the concentration and then decreased with a further increase of the fluticasone concentration. This could be explained by the lack of homogeneity when the fluticasone concentration was high because of agglomerates of pure drug, which can not be redispersed, or by the physico-chemical characteristics of this drug.

Keywords: Formoterol fumarate; Fluticasone propionate; Dry powder inhaler ;
Concentration; Adhesion; Aerodynamic behaviour

1. Introduction

Dry powder formulations for inhalation are often composed of fine drug particles and inert coarse carrier particles, typically alpha monohydrate lactose. The fine drug particles that exhibit greater cohesiveness and adhesiveness are expected to adhere to the carrier surface to form adhesive mixtures. Interactions between particles are mainly dependent on the physicochemical characteristics of the interacting particles, that is to say: particle size, shape, surface morphology, contact area, hygroscopicity (Bell, 1994; Gupta et al., 1991; Prime et al., 1997). During the mixing process, the adherence of drug particles to the more adhesive areas of the carrier surface is likely to occur. When the number of fine particles in the blend is below the saturation limit of the large particles adhesive potential, the fine particles will preferentially bind to these active sites. When these active sites have been completely occupied with fine particles, a binary carrier system would then exist, i.e., carrier with strongly bound fine particles, and free or weakly bound fine particles (Young et al., 2005). The retention of drug particles on these relatively high-energy sites during aerosolization would decrease the fine particle fraction (Staniforth, 1996). Particle interactions are of great importance in dry powder inhaler formulation where the redispersion of drug particles from carrier particles is critical for lung deposition. In such preparations, the inspiratory force of the patient must overcome the adhesion forces between drug and carrier particles to aerosolize particles.

The interactions may also be influenced by the drug load (De Boer et al., 2005; Steckel et al., 1997). Limited information on the effect of the drug concentration is currently published. Most studies on adhesive mixtures for inhalation focus only on a single drug concentration, for example 1.46 % w/w for salbutamol or terbutaline sulphate with an administered dose of drug around 500 µg (Timsina et al., 1994; Zeng et al., 2000). More recently, the development of dry powder inhalers which can deliver lower doses of drugs has received attention. In this case, the drug has a higher potency and consequently requires a lower dose (e.g. formoterol fumarate 6 – 12 µg). This may lead to variations in drug delivery as a consequence of drug retention in high-energy sites resulting in severe deviations from target doses and label claims (Young et al., 2005). So it is of interest to consider adhesive mixtures with different drug concentrations and in particular at much lower ranges.

The aim of this work was to study the influence of the drug concentration on the adhesion between drug and carrier and on the drug detachment from the carrier. Our study was realised with two different model drugs: formoterol fumarate and fluticasone propionate blended with Lactohale 200 used as the carrier. These two drugs are generally used in different dose ranges, so they will be tested in different concentration ranges. The formoterol fumarate which is administered at a low dose, that is to say 6 µg or 12 µg, will be tested at concentrations in the range of 0.09 % to 0.17 % (w/w). The fluticasone propionate requires higher dose, 100 to 500 µg, and will be tested at concentrations between 1.5 % and 3.5 % (w/w). For each drug, the influence of concentration on the drug/carrier interactions and on the aerodynamic behaviour was determined.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Lactohale 200 (Friesland Foods Domo, Zwolle, The Netherlands) was used as carrier. The two drugs tested were micronised formoterol fumarate and micronised fluticasone propionate supplied by APTAR PHARMA (Le Vaudreuil, France).

The drug/carrier blends were aerosolized with the Inhalator Ingelheim (Boehringer Ingelheim, Ingelheim am Rhein, Germany) after filling in hard gelatine capsules (size 3) (Capsugel, Colmar, France).

2.2. Blending lactose with drugs

Lactohale 200 was mixed with 0.09 %, 0.13 % and 0.17 % (w/w) of formoterol fumarate using a Turbula tumbling mixer (Bachofen Maschinenfabrik, Basel, Switzerland) at 74 rpm during 60 min. Lactohale 200 was also mixed with 1.5 %, 2.5 % and 3.5 % (w/w) of fluticasone propionate in a Turbula tumbling mixer at 90 rpm for 180 min. The blending conditions were the optimal conditions for each drug.

Each blend was prepared in 100 g quantities.

2.3. Measurement of average content

The quality of the blends was examined by analysing the quantity of drug in aliquots of powder equivalent to the amount of powder in each capsule: 50 mg for formoterol blends, 20 mg for fluticasone blends. Fifteen aliquots were taken randomly from each

blend and assayed using an UV spectrophotometer (UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan) with a wavelength of 206 nm for the formoterol fumarate. A calibration curve was established from the concentration 0.1 µg/ml to 10 µg/ml ($A = 0.0866$, $R^2 = 0.9997$). For the fluticasone propionate, drug content was determined using HPLC (ProStar 230, Varian, Paris, France) with a Pursuit C18 column (150 x 4.6 mm, 5 µm) according to an internal method of APTAR PHARMA. The drug was detected by UV spectrophotometry at a wavelength of 236 nm.

From the 15 results of drug content in the samples, the average content of drug and the mean recovery related to the nominal dose were calculated.

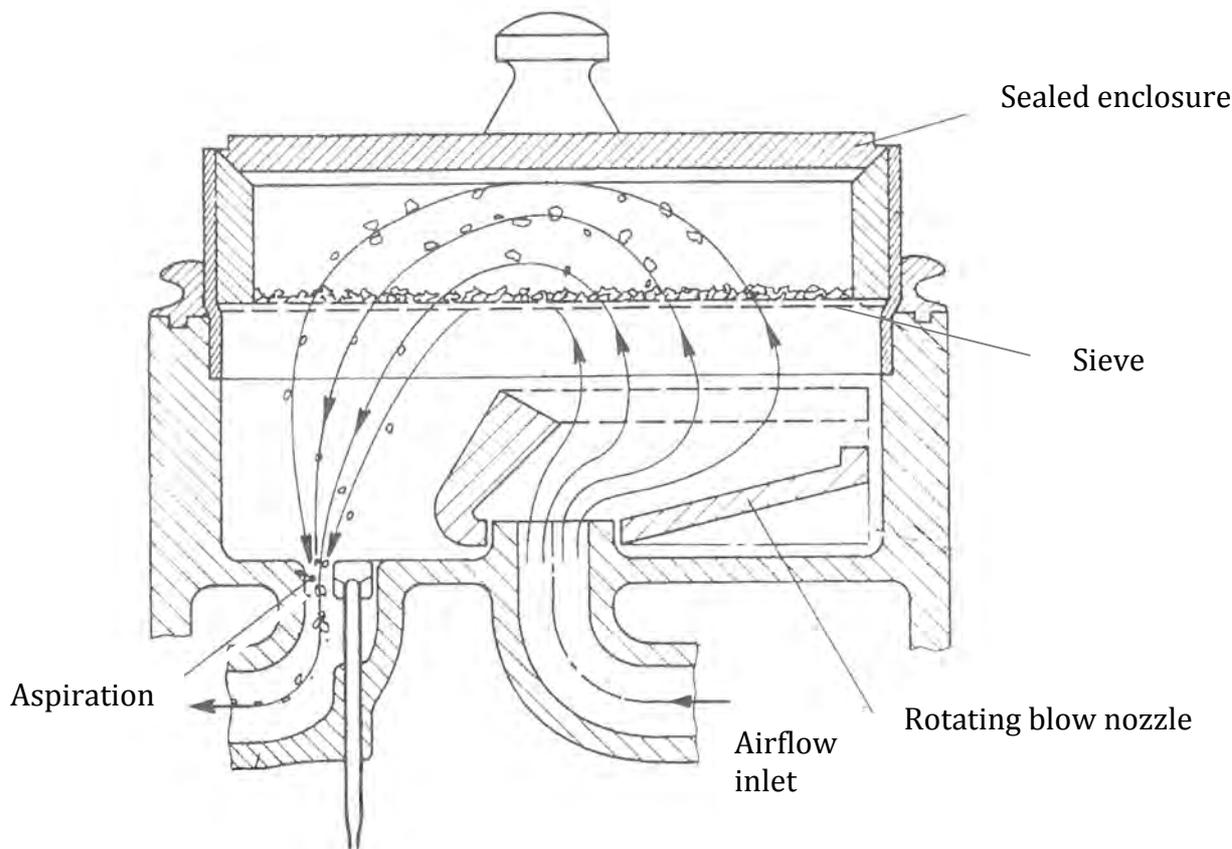
2.4. Evaluation of adhesion characteristics

To assess the adhesion of respirable-sized drug to carrier particles, a simple method was developed based on aspiration and considering the whole blend as it is used in dry powder inhalers. Adhesion characteristics were evaluated by submitting the mixtures to a sieving action by air depression with an Alpine air-jet sieve (Alpine, Haan, Germany) used with an airflow that produced a pressure drop of 4 kPa (Figure 1). Blends were put on the 32 µm sieve section of the Alpine air-jet apparatus, in a sealed enclosure. Particles were submitted on the one hand to an airflow released by a blow nozzle rotating under the sieve and, on the other hand, to aspiration through the sieve. The drug particles that were detached from the carrier and suspended in air were carried through the sieve thanks to aspiration. The objective of this test was to assess the ease with which the drug can be separated from the carrier when the blend is carried by airflow.

30 g of blend was placed on the 32 µm sieve section of the Alpine air-jet apparatus. Three samples of 50 mg (for formoterol) or 20 mg (for fluticasone) were removed from the powder bed after sieving for different lengths of time: 5, 30, 60 and 150 seconds. For each sample the percentage of remaining drug was compared to the initial dose, which is an indicator of the quantity of drug that adheres to the carrier. Indeed if the drug particles were separated from the carrier, they would be carried away through the sieve by aspiration.

The drug content in the samples was determined by UV spectrophotometry for the formoterol fumarate and by HPLC for the fluticasone propionate.

For all experiments conducted, temperature and relative humidity were controlled at 20 °C and 40-45 %.



Measurement of the depression

Figure 1. Alpine Air Jet Siever

2.5. Preparation of the capsules

The Lactohale 200/ drug blends were filled into hard gelatine capsules (size 3) manually so that each capsule contained 50 mg of blend in the case of formoterol fumarate and 20 mg of blend in the case of fluticasone propionate.

2.6. Aerodynamic evaluation of fine particle dose and emitted dose

In vitro deposition of drug from dry powder formulations was determined using a twin stage impinger (TSI, Apparatus A, European Pharmacopoeia, 2008). The TSI was assembled and loaded with 7 mL and 30 mL of solvent in the upper and lower stages respectively. Each deposition experiment involved the aerosolization at 60 l/min via an Inhalator Ingelheim of 5 capsules containing 20 mg of blend in the case of fluticasone propionate, and 10 capsules containing 50 mg of blend in the case of formoterol fumarate. The different parts of the TSI were rinsed and the amount of drug deposited in

the upper and lower stages was determined using spectrophotometry for the formoterol fumarate and using HPLC for the fluticasone propionate.

For each blend, the assays were performed in triplicate and the following parameters were used to characterize the deposition profiles of the drug:

- the emitted dose (ED), which is the sum of drug collected at upper and lower stages, divided by the number of capsules tested
- the fine particle dose (FPD) defined as the amount of drug deposited in the lower stages of the TSI, because their aerodynamic diameter was less than the cut-off diameter of the TSI (6.4 μm at an air-flow rate of 60 l/min), divided by the number of capsules tested
- the percentage emitted calculated as the ratio of ED to the average content
- the fine particle fraction calculated as the ratio of FPD to the emitted dose.

A parametric test of analysis of variance (one factor ANOVA) was applied to the results.

2.7. Industrial assays with the Prohaler®

Lactohale 200/fluticasone blends at concentrations of 2.5, 3.5 and 5 % were also filled into the Prohaler®, the new DPI device of APTAR PHARMA. The blister strips were filled so that there was 10 mg of blend in each blister. Dose Content Uniformity (DCU) was measured on 30 doses of the device. The fine particle fraction was determined with the NGI impactor. The emitted fraction was the mean of the emission of 15 doses.

3. Results and discussion

3.1. Influence of drug concentration on the average content

Table 1 presents the percentage of recovery of drug in the different samples compared to the nominal dose for the different blends. For formoterol fumarate, when the percentage increased, the drug recovery increased. In fact, a quantity of drug was able to adhere to the container. This quantity was probably the same whatever the formoterol concentration. So, if this quantity is related to the formoterol concentration, the loss will be greater in percentage when the drug concentration is lower. This is illustrated on the figure 2 where a linear relationship between the mean content and the formoterol concentration has been observed with a correlation coefficient R^2 of 0.97 which indicated a good correlation between these two parameters.

% w/w drug in the blend	Average recovery content (%)
Formoterol fumarate	
0.09 %	87.57 % (rsd: 2.92 %)
0.13 %	94.10 % (rsd: 5.9 %)
0.17 %	97.58 % (rsd: 2.81%)
Fluticasone propionate	
1.5 %	94.14 % (rsd: 7.33 %)
2.5 %	96.97 % (rsd: 5.62 %)
3.5 %	103.35 % (rsd: 11.34%)

Table 1: Average content in drug (% w/w) for the different blends

The same tendency was observed with the fluticasone propionate which was used at higher concentrations (Table 1). However, the blend with 3.5 % fluticasone propionate presented greater variations and was different from the others with regard to the average content ($p < 0.05$). This was thought to be probably due to an excess of drug that can not be fixed on the Lactohale 200 and formed agglomerates of pure drug responsible of the variations observed. This was confirmed by the visual observation of clusters in this blend, representing the aggregation of the cohesive fluticasone particles between them or with lactose fines.

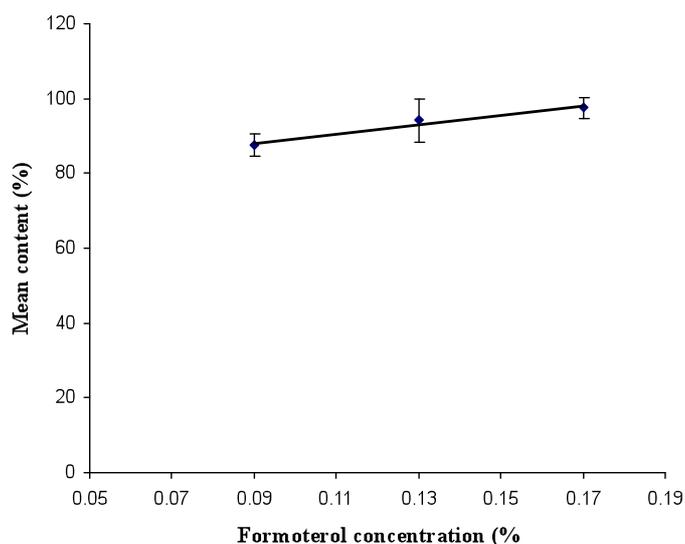


Figure 2. Relationship between recovered mean content and drug concentration

3.2. Influence of drug concentration on adhesion characteristics

With regards to the evaluation of adhesion characteristics, the figure 3 presents the percentage of formoterol fumarate remaining fixed to the carrier in relation to the functioning time of the Alpine air-jet sieve for the blends containing different percentage of formoterol fumarate. The formoterol fumarate was rapidly carried away by the airflow. The percentage of drug present after 5 seconds was an indicator of the percentage of drug that adhered to the carrier. Indeed, as drug particle size was much lower than 32 μm , if the drug particles were individualized in the blend and not adhered on the carrier, they would be carried away through the 32 μm sieve by aspiration. The percentage that remained adhered to the carrier after 5 seconds varied according to the formoterol concentration in the blend ($p < 0.001$). After 5 seconds, compared to the initial dose, about 63 %, 53 % and 46 % of formoterol fumarate remained fixed on Lactohale 200 for the blends containing respectively 0.09 %, 0.13 % and 0.17 % w/w of drug. The evolution with aspiration time showed drug detachment. If the aspiration time increased, the totality of the formoterol fumarate did not separate from the Lactohale 200 with variations according to the formoterol concentration ($p < 0.05$). After 150 seconds, an important percentage of formoterol fumarate (26 % to 31 %) remained adhered on the carrier (Figure 3). The higher percentage (31 %) remaining, observed with 0.09 % w/w formoterol, indicated that the release was the lower for this concentration.

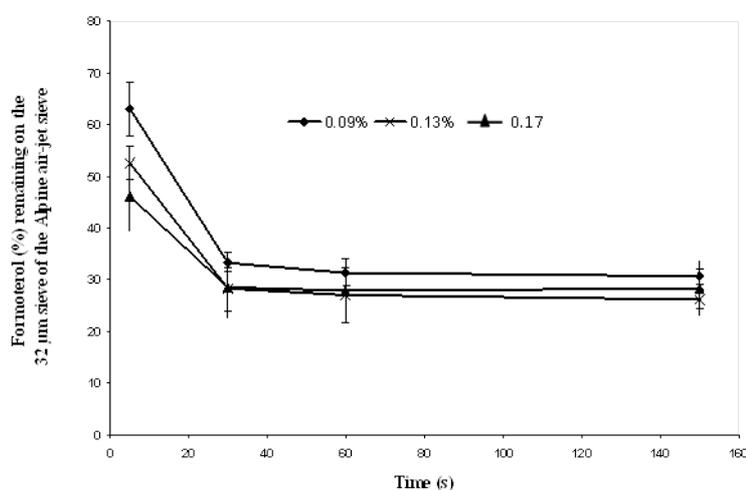


Figure 3. Formoterol remaining on the sieve in function of time

When the concentration in formoterol increased, a linear decrease ($R^2= 0.983$) of the percentage of drug remaining on the sieve after 5 seconds was observed (Figure 4). The behaviour of the lactose-drug blend during the assay can give an estimation of the drug capacity to separate from the carrier during inhalation from a Dry Powder Inhaler. Strong adhesion of the micronised drug during the assay pre-supposes difficult separation of the drug after patient inhalation or the need for greater inhalation airflow. For higher concentration of formoterol, it seemed that a lower percentage of drug adhered to the lactose.

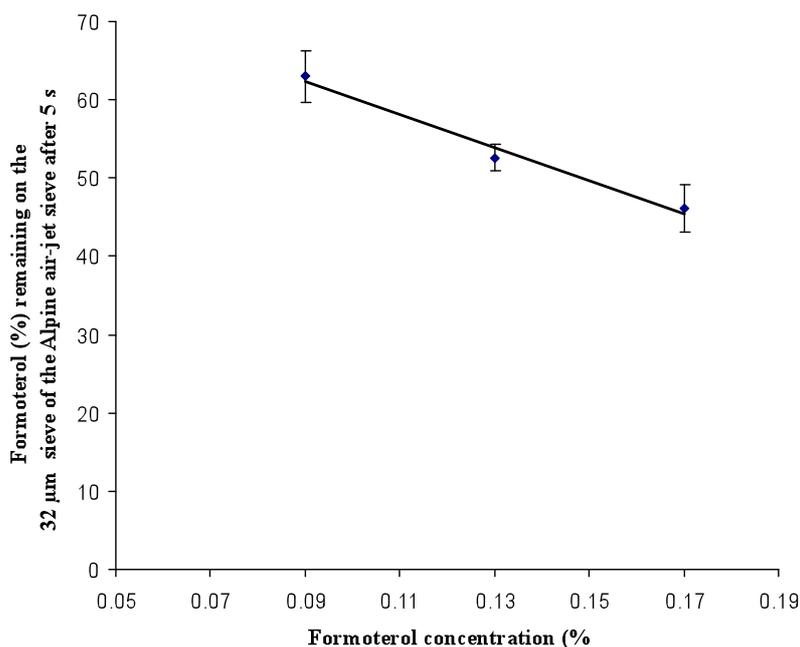


Figure 4. Relationship between the quantity of Formoterol remaining on the sieve and Formoterol concentration in mixture

Concerning the adhesion characteristics of fluticasone propionate on the Lactohale 200, little difference was observed with the fluticasone concentration (Figure 5). Compared to the initial dose, the percentage of fluticasone propionate that remained on the 32 µm sieve after 5 seconds was about 65 %, 72 % and 74 % for the blends containing respectively 1.5 %, 2.5 % and 3.5 % w/w of drug. Here, when the concentration in fluticasone increased, a linear increase ($R^2 = 0.9027$) of the quantity of drug remaining on the sieve after 5 seconds was observed. This percentage was high whatever the fluticasone concentration. But, compared to the formoterol fumarate, the concentrations of fluticasone propionate used were much higher. So, the strong binding

sites on the Lactohale 200 particles may have been covered and saturated by the fluticasone, even for the 1.5 %w/w concentration, leading the drug particles to adhere less strongly to alternative binding sites and to be dislodged from the carrier particles during the mixing process (Sebti et al., 2007). This often leads to the aggregation of the drug particles and the formation of clusters. This was in agreement with the results of average content that showed greater variations with fluticasone propionate based blends, particularly at a concentration of 3.5 %w/w probably because of the presence of many agglomerates.

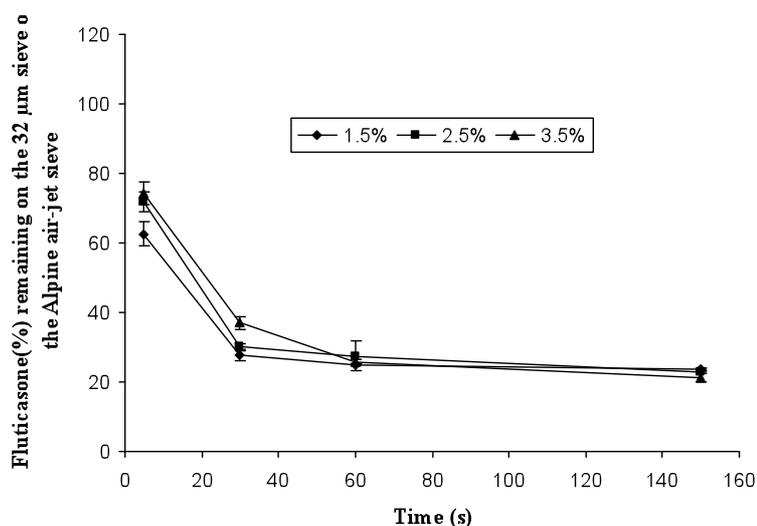


Figure 5 Fluticasone remaining on the sieve in function of time

During the evaluation of the adhesion characteristics, these clusters made of very cohesive drug particles were not dissociated after 5 seconds and were not able to pass through the 32 µm sieve and so remained on the sieve and were responsible of the high percentage of drug present at 5 seconds. This percentage decreased with aspiration time. In this case, it is supposed that the drag forces of the airstream overcame the adhesion forces of the particles and was able to break up the agglomerates.

3.3. Influence of drug concentration on aerodynamic behaviour

The aerodynamic behaviour of the Lactohale 200 / drug blends was estimated with TSI making it possible to study the in vitro deposition profile of the drugs (Table 2). The emitted doses obtained for the formoterol fumarate were between 72.90 % and 81.58 % and did not differ significantly with the concentration ($p > 0.05$). The fine particle fractions obtained were between 15 % and 26.20 % and differ significantly with

the formoterol concentration ($p < 0.005$). The fine particle fractions are not very high and could be due to the low drug load in the blends (0.09 to 0.17 %). Indeed, Steckel et al. (2004) obtained fine particle fractions of salbutamol higher than 39 % in the case of high drug load (2.8 % w/w) and ranged from 12 to 27 % for low drug load (0.25 % w/w). The high fine particle fractions were attributed to the drug overage that led to adhesion of drug particles to the crystal surfaces with the highest surface energy with a huge proportion of drug being adhered to the low energy sites of the crystals.

% w/w drug in the blend	Percentage emitted	Fine particle fraction (%)
Formoterol fumarate		
0.09 %	73 % (rsd: 4.8 %)	15 % (rsd: 0.6 %)
0.13 %	81 % (rsd: 10.8%)	19 % (rsd: 0.4 %)
0.17 %	81 % (rsd: 3.7 %)	26 % (rsd: 3.8 %)
Fluticasone propionate		
1.5 %	79 % (rsd: 7.8 %)	34 % (rsd: 2.7 %)
2.5 %	79 % (rsd: 2.2 %)	40 % (rsd: 0.5 %)
3.5 %	72 % (rsd: 0.8 %)	36 % (rsd: 2.7 %)

Table 2: Emitted doses and fine particle fractions obtained from the different blends

Figure 6 presents the fine particle fraction in relation to the concentration of formoterol fumarate. The fine particle fraction increased with the drug concentration. This was in agreement with the adhesion test that showed lower adhesion of formoterol fumarate when the concentration increased.

A linear relationship ($R^2 = 0.985$) between the fine particle fraction and the formoterol fumarate concentration was observed. It may be related to the fact that the detachment of formoterol fumarate from the Lactohale 200 was lower when the concentration was low in the mixture since the drug particles initially adhered to the high energy adhesion sites on the carrier. An increase in the drug concentration led to the saturation of the carrier sites with the strongest binding forces. At higher drug

concentrations, more drug particles may be adhering to sites with less strong binding affinities on the surface of carriers, thus enabling greater drug detachment. Another possibility is the formation of aggregates between the drug in excess and the fine particles of lactose contained in the Lactohale 200. In this theory, also called redistribution theory, aggregates of drug and lactose fine particles termed multiplerts are formed which increases the detachment forces during inhalation (Louey and Stewart, 2002; Lucas et al, 1998).

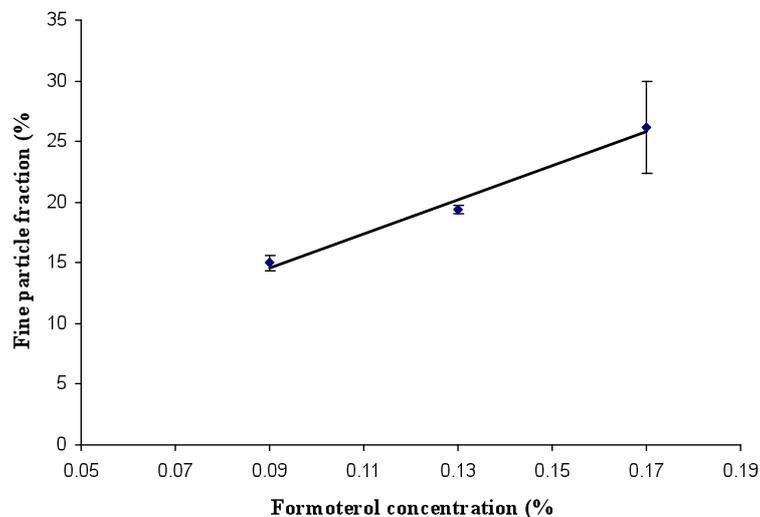


Figure 6. Relationship between the Fine Particle Fraction of Formoterol and its concentration in mixture

The emitted doses obtained for the fluticasone propionate were between 71.60 % and 79.52 % and did not differ significantly with the concentration ($p > 0.05$).

The fine particle fractions obtained were between 33 % and 40 % and differ significantly with the fluticasone concentration ($p < 0.001$). First, the fine particle fraction increased with the fluticasone concentration and then decreased with a further increase of the fluticasone concentration. These results are in agreement with those obtained by APTAR PHARMA and their new device Prohaler®. For concentrations of 2.5, 3.5 and 5 % w/w of fluticasone in lactose, the emitted fractions of fluticasone and fine particle fractions were 81 %, 83 %, 79 % and 32 %, 28 %, 26 % respectively. A linear relationship ($R^2 = 0.91$) between the fine particle fraction and the fluticasone concentration was observed (Figure 7). Beyond 2.5 % w/w, increasing the fluticasone concentration decreases significantly the fine particle fraction. Even if the 1.5 % concentration was not tested with the Prohaler, it can be supposed that the behaviour

would be the same as for the Inhalator. Indeed, we realised many blends whose behaviour in the Prohaler and in the Inhalator was compared and the same tendency was observed.

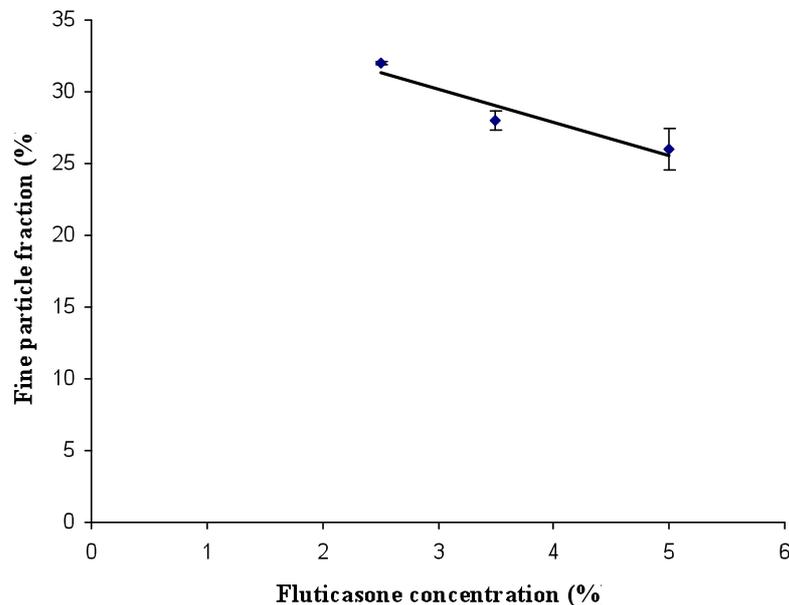


Figure 7. Relationship between the Fine Particle Fraction of Fluticasone and its concentration in mixture

The increase in drug loading is in favour of higher fine particle fractions but until an optimum beyond which the excess of drug forms agglomerates of the cohesive drug particles leading to a lack of homogeneity and uncertain delivery of the drug. This is in agreement with the observations of Podczek et al (1998) who reported that if detached drug agglomerates are strong enough to withstand the forces needed to break them up, the fine particle fraction will be unsatisfactory (de Boer et al., 2005).

3.4. Correlation between adhesion characteristics and inertial impaction

The results of drug separation from the carrier by sieving with the Alpine air-jet sieve were compared with those obtained from in vitro deposition studies with the Twin Stage Impinger for the formoterol fumarate. Figure 8 represents the relationship between fine particle fraction and the percentage of formoterol fumarate remaining on the 32 μm sieve of the air-jet sieve after 5 seconds. A linear relationship was noted between them with a coefficient R^2 of 0.937 which indicates a good correlation between these two parameters. These results concern the first 5 seconds of aspiration which could be compared to the inhalation time of a patient when using a dry powder inhaler.

The method we proposed using Alpine air-jet sieve is simple, easy to perform, making it possible to forecast drug detachment from the carrier and to predict the aerodynamic behaviour of the drug. This method of adhesion evaluation considered the whole blend as it is used in dry powder inhalers which was different to techniques like Atomic Force Microscopy that concerns only one particle and not the overall blend (Louey et al., 2001)

4. Conclusion

Drug concentration in dry powder inhalers influences adhesion, content uniformity and in vitro deposition of the drug. This influence depends on the drug considered and its range of concentration.

The formoterol fumarate concentration in adhesive mixtures influences its adhesion with Lactohale 200 and its detachment from this carrier. For the higher concentration of formoterol fumarate, a lower quantity of drug adheres to the lactose. The fine particle fraction increases with the formoterol fumarate concentration in the range of concentration tested. There is a linear relationship between the formoterol fumarate concentration and the fine particle fraction. Adhesion testing using air-jet sieving assays makes it possible to predict drug separation from the lactose carrier faster and more simply than from assays with an impactor.

In the case of fluticasone propionate, the influence of the concentration is different, but the concentrations tested are higher. The fine particle fraction first increases with the concentration and then decreases with a further increase of the fluticasone concentration. If the drug concentration is too high, there is an excess of drug that can not be fixed on the carrier and forms agglomerates of pure drug responsible of a lack of homogeneity and of a decrease in fine particle fraction.

References

- Bell, J., 1994. Dry powder inhalation technology. *Pharm. Manufact. Int.* 179-182.
- De Boer, A.H., Dickhoff, B.H.J., Hagedoorn, P., Gjaltema, D., Goede, J., Lambregts, D., Frijlink, H.W., 2005. A critical evaluation of the relevant parameters for drug redispersion from adhesive mixtures during inhalation. *Int. J. Pharm.*, 294, 173-184
- Gupta, P.K., Hickey, A.J., 1991. Contemporary approaches in aerolized drug delivery to the lung. *J. Control. Release*, 17, 127-147
- Louey, M.D., Mulvaney, P., Stewart, P., 2001. Characterisation of adhesional properties of lactose carriers using atomic force microscopy. *J.Pharm.Biomed.Anal.*, 25, 559-567
- Louey, M.D., Stewart, P.J., 2002. Particle interactions involved in aerosol dispersion of ternary interactive mixtures. *Pharm.Res.* 19(10), 1524-1531
- Lucas, P., Anderson, K., Staniforth, J.N., 1998. Protein deposition from dry powder inhalers: fine particle multiplets as performance modifiers. *Pharm. Res.* 15, 562-569
- Podczeck, F., 1998. The relationship between physical properties of lactose monohydrate and the aerodynamic behaviour of adhered drug particles. *Int. J. Pharm.* 160, 119-130
- Prime, D., Atkins, P.J., Slater, A., Sumby, B., 1997. Review of dry powder inhalers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 26, 51-58
- Sebti, T., Vanderbist, F., Amighi, K., 2007. Evaluation of the content homogeneity and dispersion properties of fluticasone DPI compositions. *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 17(3), 223-229
- Staniforth, J.N., 1996. Pre-formulation aspects of dry powder aerosols. In: *Proceedings from Respiratory Drug Delivery V. Phoenix, AZ*, pp 65-74
- Steckel, H., Müller, B.W., 1997. In vitro evaluation of dry powder inhalers II: influence of carrier particle size and concentration on in vitro deposition. *Int. J. Pharm.* 154, 31-37
- Steckel, H., Markefka, P., teWierik, H., Kammelar, R., 2004. Functionality testing of inhalation grade lactose. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57, 495-505
- Timsina, M.P., Martin, G.P., Marriott, C., Ganderton, D., Yianneskis, M., 1994. Drug delivery to the respiratory tract using dry powder inhalers. *Int. J. Pharm.*, 101, 1-13

Young, P.M., Edge, S., Traini, D., Jones, M.D., Price, R., El-Sabawi, D., Urry, C., Smith, C., 2005. The influence of dose on the performance of dry powder inhalation systems. *Int. J. Pharm.*, 296, 26-33

Zeng, X.M., Martin, G.P., Marriott, C., Pritchard, J., 2000. The influence of carrier morphology on drug delivery by dry powder inhalers. *Int.J. Pharm.*, 200, 93-106

Chapitre 3

INFLUENCE OF THE LACTOSE GRADE WITHIN DRY POWDER FORMULATIONS OF FLUTICASONE PROPIONATE AND TERBUTALINE SULPHATE

V.N.P. Le¹, H. Bierend², E. Robins³, H. Steckel², M.P. Flament^{1*}

¹INSERM 1008, College of Pharmacy and School of Medicine, Univ. Lille Nord de France,
3 Rue du Prof. Laguesse, 59006 Lille, France

²Christian Albrecht University Kiel, Pharmaceutical Institute 9a, 24118 Kiel, Germany

³APTAR Pharma., Route des Falaises, BP 37, 27100 Le Vaudreuil, France

(Article soumis)

*correspondence

Dr. Marie-Pierre Flament, PhD

College of Pharmacy, U 1008

Univ. Lille Nord de France

3 rue du Professeur Laguesse

59006 Lille, France

Phone : + 33 3 20964974

Fax : + 33 3 20959009

marie-pierre.flament@univ-lille2.fr

Abstract

Dry powder formulations are often composed of fine drug particles and coarser carrier particles, typically alpha-lactose monohydrate. However, the performance of a powder formulation may be highly dependent on the lactose quality and source. This study investigated the characteristics of lactose that influence the drug-to-carrier interaction and the performance of lactose-based dry powder inhaler formulations. The selected lactoses differed in the preparation processes and the content of fine lactose particles. Efficiency testing was done using fluticasone propionate and terbutaline sulphate as model drugs. Inverse Gas Chromatography was used to determine the surface heterogeneity distribution of different energy sites of the lactose and to understand the mechanism by which the fine carrier particles can improve the performance of dry powder inhalers. To assess the adhesion of respirable-sized drug to carrier particles, a simple method was developed based on aspiration and considering the whole blend as it is used in dry powder inhalers. When the percentage of fine lactose is high, a lower quantity of drug adheres to the lactose and/or the adhesion force is also lower. This was confirmed by the aerosolization assays done in the TSI (Twin Stage Impinger). A correlation was observed between adhesion characteristics and inertial impaction. For both drugs, the fine particle fractions were highest in blends that present a greater proportion of lactose fine particles. A fairly good correlation between the fine particle fractions of both drugs and the Peak Max value and the AUC (Area Under Curve) were found by inverse Gas Chromatography. With higher fine particle fraction values, which correspond to higher content of fines, the peak maxima determined by inverse Gas Chromatography were shifted to higher adsorption potentials which supports the agglomeration hypothesis.

Key words: Dry powder inhalation, lactose, physicochemical properties, adhesion, aerodynamic behaviour, inverse gas chromatography

1. Introduction

Dry powder formulations are often composed of fine drug particles and coarser carrier particles, typically α -lactose monohydrate because it is an inert, cheap, broadly available and non-toxic excipient [1]. This results in the improvement of handling and processing properties, a more accurate dosing of the drug by dilution of the active substance to suitable mass ratio and an increase in device performance [2]. The fine drug particles are expected to adhere to the carrier surface to form interactive mixtures [3]. Interactions between particles are mainly dependent on the physicochemical characteristics of the interacting particles, that is to say particle size, shape, surface morphology, contact area and hygroscopicity [4, 5]. These different properties will influence the drug-carrier blend process and also drug delivery from the carrier and its dispersion. So, the knowledge of these physicochemical characteristics is particularly important to obtain reproducible and efficient efficacy of the inhalation product.

However, the efficiency of a powder formulation may be highly dependent on the lactose quality and source [6]. The lactose needs to be carefully selected for the efficient delivery of a drug from the inhaler. The quality of lactose, that is to say sieved or milled quality, used for the formulation of an inhalation powder may affect the aerodynamic behaviour of drug/lactose blends [7]. Furthermore, every drug has its own characteristics regarding its tendency to agglomerate and the ability to form an adhesive mixture with lactose [1]. So, for each drug, specific lactose qualities have to be selected.

More recently, the adhesion of fine carrier particles to dry powder formulation has shown to improve the dispersion and deposition of drug particles [8, 9]. In the literature, two different mechanisms have been proposed to explain the improvement of formulation performance by addition of fine particles of carrier. The first hypothesis supposes the occupation of areas of high adhesion by fine excipient particles. It was proposed that fine excipient particles preferentially bind to the areas on the surface of the coarse carrier with the strongest binding characteristics, thus forcing drug particles to bind to areas with weaker binding characteristics [10]. The second hypothesis supposes the formation of agglomerates of drug and fine excipient particles. So, during aerosolization, drug particles are more easily liberated from fine particle multiplets than from the surface of coarse particles, as fine lactose was thought to have a smoother surface than coarse lactose, giving a reduced force of adhesion between drug and fines

[10-12]. Actually, the mechanism of action of the fine particles remains unclear and more work is required to fully elucidate their role.

The concentration and particle size of fine lactose have to be carefully controlled to obtain satisfactory and reproducible pharmaceutical performance from a specific formulation associated with a specific device [8].

The aim of this work was to identify the characteristics of lactose that influence the drug-to-carrier interaction and the performance of dry powder formulation using fluticasone propionate and terbutaline sulphate as model drugs. For this purpose, marketed lactose qualities obtained by milling or by sieving were compared. From the same raw materials, two fractions of lactose were also prepared and tested to help understanding the role of smaller carrier particles on the performance of dry powder formulations.

Inverse Gas Chromatography (iGC) was used to determine the surface heterogeneity distribution of different energy sites of the lactose and to understand the mechanism by which the fine carrier particles can improve the performance of dry powder inhalers. IGC is a very sensitive technique to reveal differences in surface adsorption energies. By starting a measurement at infinite dilution, initially only the highest energy sites will interact. By increasing the partial pressure more and more in order to reach finite dilution, less active sites will be involved in the interaction and an adsorption potential distribution caused by different energy sites can be generated. The objective is to find a general applicable method to describe the lactose qualities in advance and hence to predict the formulation performance.

2. Materials and methods

2.1. Materials

The two drugs tested were micronized terbutaline sulphate and micronized fluticasone propionate supplied by APTAR Pharma (Le Vaudreuil, France). Two lactose grades with comparable mean diameter were used as carrier: lactose A and lactose B. Lactose A is the Lactohale LH 200 (Friesland Foods Domo, Zwolle, The Netherlands), a lactose quality obtained by milling whereas lactose B is the Inhalac 230 (Meggle, Hamburg, Deutschland), a sieved lactose quality. Furthermore, 2 fractions of lactose without particles below 32 μm were prepared from A and B by air-jet sieving through a 32 μm sieve for 30 minutes with an airflow that produces a pressure drop of 4 kPa.

The drug/carrier blends were aerosolized with the Inhalator Ingelheim (Boehringer Ingelheim, Ingelheim am Rhein, Germany) after filling in hard gelatine capsules (size 3) (Capsugel, Colmar, France).

2.2. Characterisation of the lactose qualities

Particle Size Distribution

The particle size distribution was determined with a laser particle size analyser Mastersizer S (Malvern, Orsay, France) by the wet way on liquid dispersions using the 300RF lens and the small sample dispersion unit. A small quantity of lactose was dispersed in ethanol with 0.5% polysorbate 80.

For each measurement, the mean diameter, the median diameter, the diameters under which 10% particles (D10%) and 90% particles (D90%) are to be found, respectively, are determined. Each result is the mean of three measurements.

Water content

The water content was determined by Karl-Fisher titration.

Scanning Electron Microscopy

Scanning Electron Microscopy (SEM) was performed using an ITACHI S4700 FEG (secondary electron) at an accelerated voltage between 3 and 6 kV.

Inverse Gas Chromatography

The surface heterogeneity distribution of different energy sites of the lactose qualities was determined by means of inverse Gas Chromatography (SMS-iGC 2000 system, Surface Measurement Systems, London, UK) at an elutant oven temperature of 35°C, a column oven temperature of 30°C, 0% relative humidity and a helium carrier flow rate of 10 ml/min. Helium 5.0 was supplied by Air Liquide (Nanterre, France). 1g of lactose was packed into a silanized glass column with an inner diameter of 3 mm and a length of 30 cm and mounted with silane treated glass wool. The columns were tapped for 10 min in an iGC column packer (Surface Measurement Systems, London, UK) at medium intensity (corresponds to level 6). The measurement delay for equilibrating at 0 % relative humidity was always set to 120 min to remove physisorbed water and impurities adsorbed on the surface. The pulsed injections were carried out by a 0.25 mL

gas loop. Ethyl acetate (HPLC grade, Sigma-Aldrich, St Louis, USA) was used as elutant to predict the interaction potential of lactose with non-polar and polar drugs respectively. The injection concentrations of the solvent vapours were 0.1 p/p⁰ for the reference gas methane (4.5 quality, Messer, Germany) for dead time correction and 0.03, 0.05, 0.1, 0.33, 0.55, 0.77, 1.0, 1.1, 1.2 p/p⁰ for ethyl acetate. All runs were performed in duplicate and detected with a Flame Ionization Detector: for combustion hydrogen 5.0 (Air Liquide, Nanterre, France) and air (filtered and dried by Clearpoint® and Drypoint® respectively, Beko, Germany) were applied. The iGC raw data were analyzed by means of the iGC Analysis Macros, Version 1.3.3 Standard and Version 1.25 Advanced (Surface Measurement Systems, London,UK). The areas under the curves of the heterogeneity plots were calculated using the software OriginPro 8.5 (OriginLab, Elk Grove Village, USA).

2.3. Blending lactose with drugs

Micronized Terbutaline Sulphate (TBS) and lactose were mixed to a ratio of 1:67.5 w/w (1.46% w/w), in a Turbula blender for 2 hours at 90 rpm under controlled relative humidity. Each blend was prepared in 100 g quantity. Fluticasone Propionate (FP) and lactose were mixed at concentration of 2.5% w/w under the same conditions. The concentration of 2.5% was chosen because this is the standard concentration used by APTAR Pharma for the fluticasone propionate as a model formulation. For the terbutaline sulphate, it was not possible to obtain a homogeneous blend at 2.5% w/w so the ration 1/67.5 often described in the literature was retained.

For each blend, the homogeneity was checked by dosing the drug content on 15 samples and evaluating the content uniformity (see 2.5).

2.4. Preparation of the capsules

The lactose/ drug blends were filled into hard gelatine capsules (size 3) manually so that each capsule contained 500 µg of drug that is to say 20 mg of blend for fluticasone propionate and 34.25 mg of blend for terbutaline sulphate.

2.5. Measurement of drug content and content uniformity

The quality of the blends was examined by analysing the quantity of drug in aliquots of sampled powder which is the amount of powder in each capsule: 20 mg or 34.25 mg for

fluticasone propionate and terbutaline sulphate respectively. Fifteen aliquots were taken randomly from each blend and assayed using an UV spectrophotometer (UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan) at a wavelength of 276 nm for the terbutaline sulphate. For the fluticasone propionate, drug content was determined using HPLC (ProStar 230, Varian, Paris, France) with a Pursuit C18 column (150 x 4.6 mm, 5 µm) according to an internal method of APTAR Pharma. The drug was detected UV spectrophotometrically at a wavelength of 236 nm. From the 15 results of drug content in the samples, we calculated the average content in drug and the mean recovery related to the nominal dose. The variation coefficient was used to assess the content uniformity of the blends.

2.6. Evaluation of adhesion characteristics

To assess the adhesion of respirable sized drug to carrier particles, a simple method was developed based on aspiration and considering the whole blend as it is used in dry powder inhalers. Adhesion characteristics were evaluated by submitting the mixtures to a sieving action by air depression with an Alpine air-jet sieve (Hosokawa Alpine GmbH, Augsburg, Germany) used with an airflow that produced a pressure drop of 4 kPa. 30 g of blend was placed on the 32 µm sieve section of the Alpine air-jet apparatus. Three samples of 20 mg for fluticasone propionate or 34.25 mg for terbutaline sulphate were removed from the powder bed after sieving for different lengths of time: 5, 30, 60, 150 and 300 seconds. For each sample the percentage of remaining drug was compared to the initial dose, which is an indicator of the quantity of drug that adheres to the carrier. Temperature and relative humidity were controlled at 20°C and 40-45% for all experiments.

2.7. Aerodynamic evaluation of fine particle dose and emitted dose

In vitro deposition of drug from dry powder formulations was determined using a twin stage impinger (TSI, Apparatus A, European Pharmacopoeia, 2009). The TSI was assembled and loaded with 7 ml and 30 ml of solvent in the upper and lower stage respectively. Each deposition experiment involved the aerosolization at 60 l/min via an Inhalator Ingelheim of 5 capsules containing 500 µg of drug. The different parts of the TSI were rinsed and the amount of drug deposited in the upper and lower stage was determined.

For each blend, the assays were performed in triplicate and the following parameters were used to characterize the deposition profiles of the drug:

- the emitted dose (ED), which is the sum of drug collected at upper and lower stages, divided by the number of capsules tested,
- the fine particle dose (FPD) defined as the amount of drug deposited in the lower stage of the TSI, because their aerodynamic diameter was less than the cut-off diameter of the TSI (6.4 μ m at an air-flow rate of 60 l/min), divided by the number of capsules tested,
- the percentage emission calculated as the ratio of ED to the average content and
- the fine particle fraction calculated as the ratio of FPD to the emitted dose.

Temperature and relative humidity were controlled at 20°C and 40-45% for all experiments.

A statistical ANOVA F test was applied to the results obtained with TSI.

3. Results and discussion

3.1. Characteristics of the carriers

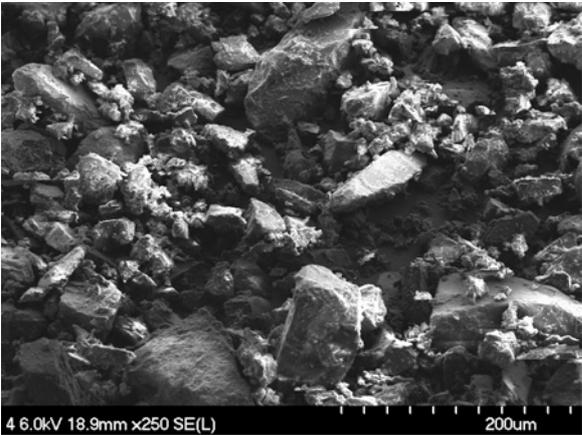
Table 1 presents the particle size of lactose qualities A and B. Both present comparable mean and median diameters but the percentage of particles below 32 μ m is different. Lactose A, which is obtained by milling contains a higher percentage of these particles. The milling process produces fine materials that adhere to the surface of the larger particles. This is confirmed by the SEM observations (Figure 1a and 1c).

Lactose	Mean diameter (μ m)	Median diameter (μ m)	D 10% (μ m)	D 90% (μ m)	% fines (<32 μ m) removed by the air-jet sieve
A	74.76	70.59	7.69	145.73	19.3
B	71.41	69.66	19.42	123.89	9.9

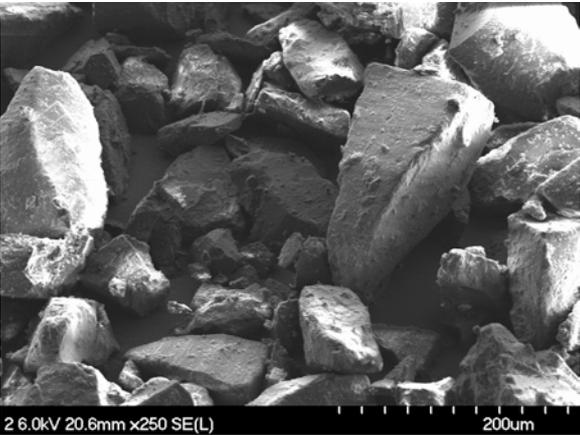
Table 1: Particle size distribution of the carriers

The SEM photographs in Figure 1 show the morphology of lactose qualities A and B, with and with no particles below 32 μ m. They exhibit tomahawk shape which is typical of α -lactose monohydrate and is the shape of lactose crystal allowed to grow to maturity [13]. The fine particles attached to the large carrier particles are clearly visible in the case of lactose A (Figure 1a and 1c). When the lactose is subjected to the Alpine air-jet sieve to remove particles below 32 μ m, the decrease in the level of fines is visually

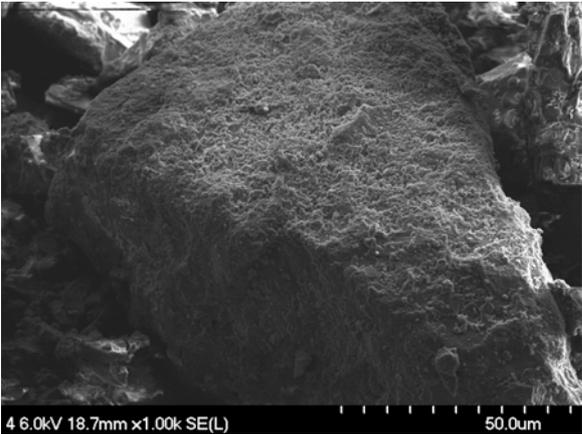
observed (Figure 1b, 1d and 1e). This is accompanied by a decrease in apparent surface roughness.



a) Lactose A



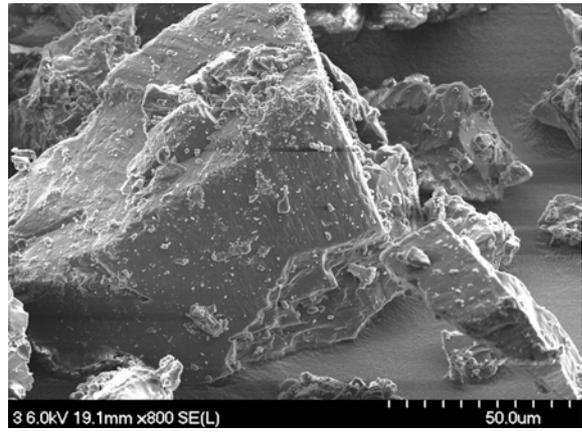
b) Lactose A with no particles below 32 μm



c) Lactose A



d) Lactose A with no particles below 32 μm



e) Lactose B



f) Lactose B with no particles below 32 μm

Figure 1. SEM Photo of Lactoses.

For all the lactose qualities, the water content measured by the Karl-Fisher titration (data not shown) was about 5%, which is typical of α -lactose monohydrate and is in agreement with the specifications of the European Pharmacopoeia: water content between 4.5% and 5.5%.

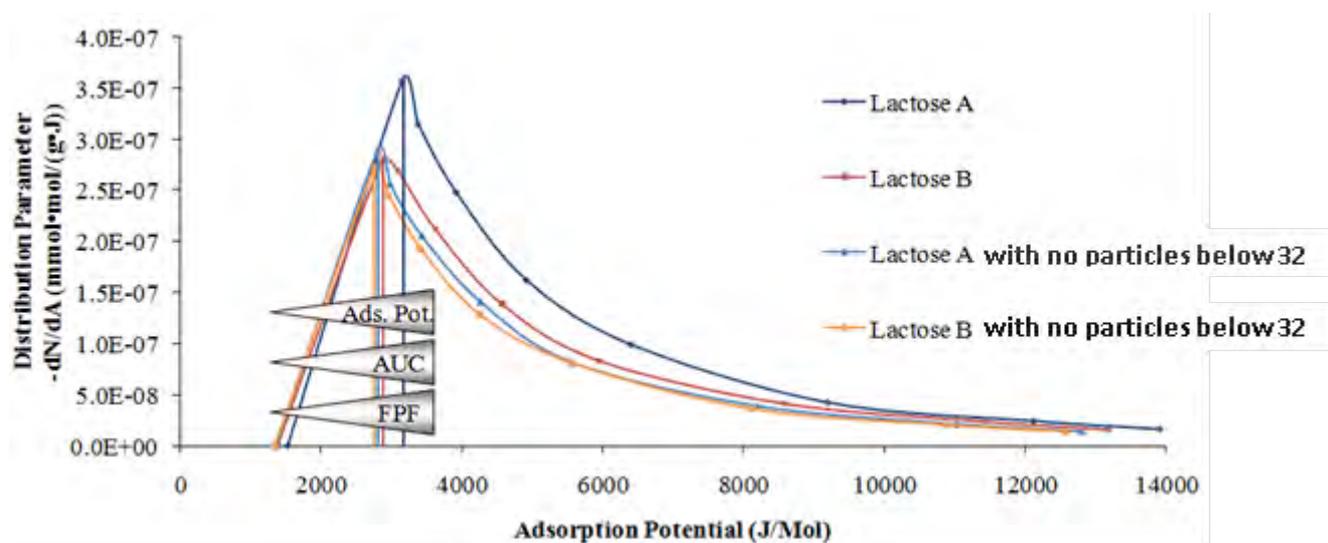


Figure 2. Data from iGC measurements of lactoses.

The calculated iGC heterogeneity plots with ethyl acetate of the four lactose grades investigated are depicted in Figure 2. The iGC Peak Max value in J/mol indicates that the most energy sites of the lactose surface have this stated adsorption potential. With increasing Peak Max, the area under the curve (AUC) is also augmented. In Table 4, an overview of the single mean values is given.

3.2. Content uniformity

Table 2 shows the average drug contents of the carrier/drug blends and coefficients of variation (CV). All formulations present a drug recovery over 97% and a satisfactory uniformity with CV less than 3% (terbutaline sulphate) or 4% (fluticasone propionate). Blend homogeneities seem to be slightly higher in the case of terbutaline sulphate. All individual recovery was comfortably within 85-115% of label claim, suggesting that homogeneous blends were obtained for all drug/lactose blends.

Blends	Average drug content (% w/w)	CV (%)	% recovery
Lactose A + TBS	1.44%	3.05%	98.63 %
Lactose B + TBS	1.46%	0.86%	99.99 %
Lactose A with no particles below 32 μm +TBS	1.43%	0.62%	97.94 %
Lactose B with no particles below 32 μm +TBS	1.46%	0.58%	99.99 %
Lactose A + FP	2.47%	2.17%	98.80 %
Lactose B + FP	2.43%	3.87%	97.20 %
Lactose A with no particles below 32 μm + FP	2.42%	2.06%	96.80 %
Lactose B with no particles below 32 μm + FP	2.45%	3.39%	98.00 %

Table 2: Average drug content of the carrier/drug blends (CV: coefficient of variation)

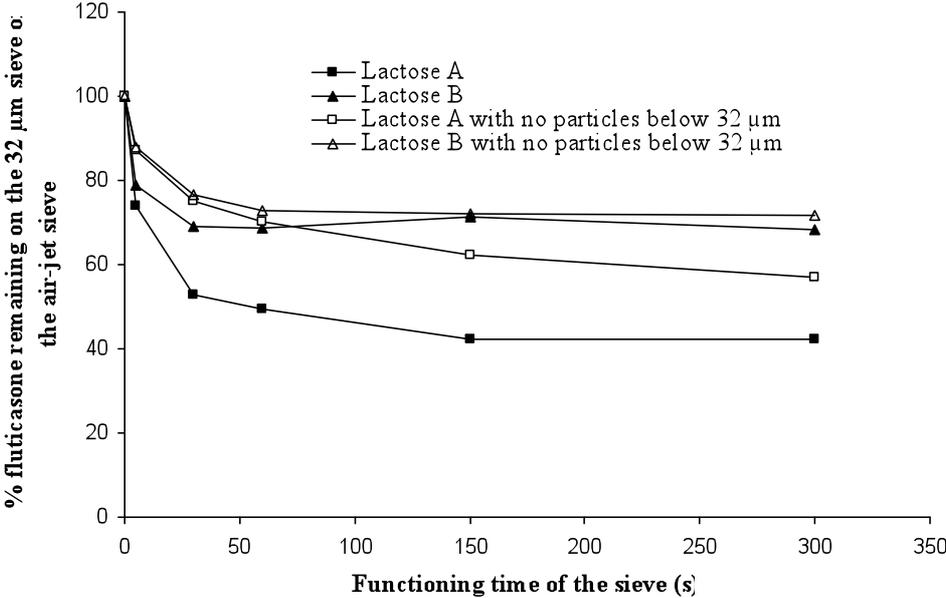
3.3. Adhesion characteristics

The adhesion characteristics of the each drug with the four lactose qualities, raw lactoses A, B, and lactoses A and B without particles below 32 μm , by analysing the drug present on the 32 μm sieve after sieving the blends with the Alpine air-jet sieve, were compared.

Figure 3 presents the percentage of fluticasone propionate (3 a) or terbutaline sulphate (3 b) remaining on the carrier in relation to the duration of the sieving step. A similar drug loss over time was observed for all investigated blends. The quantity of drug remaining after 5 seconds is an indicator of the quantity of drug that strongly adheres to the lactose. Indeed, as drug particle size is much lower than 32 μm , if the drug particles were individualized in the blend and not adhered on the carrier, they would be carried away through the 32 μm sieve by aspiration. After 5 s, about 74% fluticasone propionate remains fixed on lactose A, 79% on lactose B, 87% on lactose A with no particles below

32 μm and 88% on lactose B with no particles below 32 μm . In the case of terbutaline sulphate, after 5 s about 55% remains fixed on lactose A, 70% on lactose B, 76% on lactose A with no particles below 32 μm and 83% on lactose B with no particles below 32 μm . In all case, more fluticasone propionate than terbutaline sulphate remains fixed, particularly in the case of lactose A. With this lactose quality, a lower quantity of drug adheres to the lactose and/or the adhesion force is lower.

a)



b)

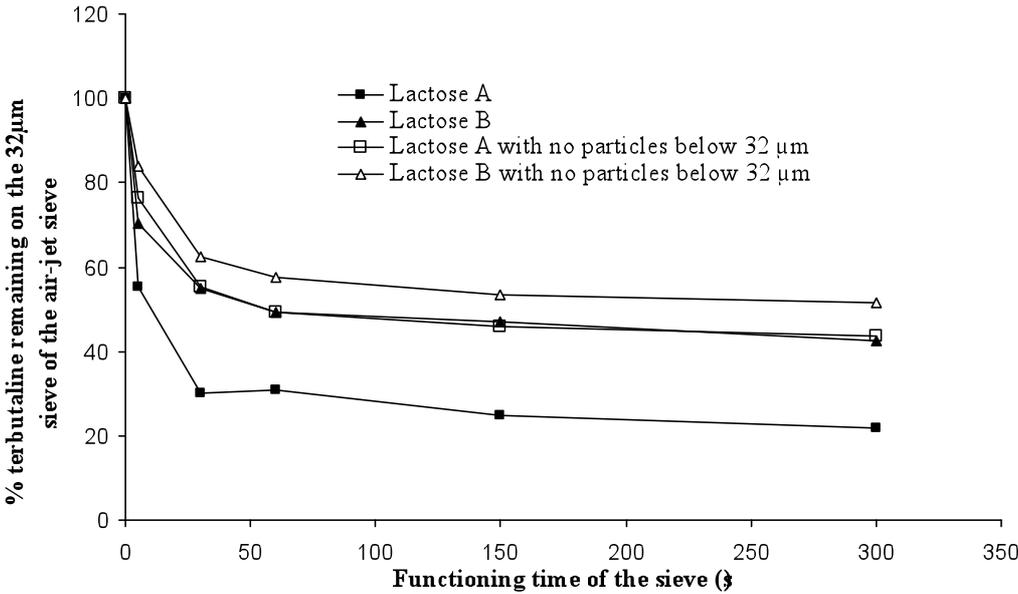


Figure 3. Adhesion Evaluation of Fluticasone (a) and Terbutaline (b) Mixtures

The evolution with increasing aspiration times shows drug detachment, particularly during the first 30 seconds. But, after 5 min, a plateau is obtained, a considerable quantity of drug is not released from the carrier with variations according to the lactose and the drug under consideration. For example, 20% TBS remains fixed on the lactose for the blend lactose A/TBS and 70% FP for the blend lactose B/FP.

For fluticasone propionate (Figure 3 a), adhesion on lactose A is lower, more drug is released. This could be due to the high percentage of fine particles within this lactose A. In the first 60s, the curves obtained with lactose A with no particles below 32 μm and B with no particles below 32 μm are comparable which tends to confirm the influence of the fine particles of lactose on drug detachment. The curves obtained with lactose B and B with no particles below 32 μm are similar probably because lactose B contains less fine particles than lactose A. When the fine particles of lactose A are removed, the behaviour of the lactose A with no particles below 32 μm is close to the one of lactose B and B with no particles below 32 μm .

In the case of terbutaline sulphate, the same trend is observed but the drug quantities adhering to the lactose is different.

Removal of fine lactose from the coarse lactose carrier reduces the dispersibility of propionate fluticasone propionate and terbutaline sulphate. The mechanism by which lactose fine particles modulate performance remains ambiguous. Two main theories are proposed: the hot-spot theory and the fine particle multiplets theory (7, 8, 12-15). The first one supposes the occupation of the high-energy sites on the carrier by the lactose fine particles leaving low energy sites available for the drug, thus enabling greater drug detachment. In the second theory also called redistribution theory, aggregates of drug and lactose fine particles termed multiplets are formed enabling greater drug detachment. In our case, the fine particle multiplets theory is preferred. Indeed, when adding a fixed amount of fine lactose to the lactose A with no particles below 32 μm before or after blending with the fluticasone propionate, the adhesion characteristics were not different (data not shown). The fluticasone propionate dispersion was not influenced by the order of mixing.

Adhesion strength seems to be different depending on the drug. The detachment forces required to remove respirable particles are different and probably related to the surface characteristics of the drug. The behaviour of the lactose/drug blend during the assay can

give an estimation of the drug capacity to separate from the carrier during inhalation. Strong adhesion of the drug to lactose during the assay presupposes difficult separation of the drug after patient inhalation or the need for greater inhalation airflow.

3.4. Aerosolization properties of the dry powders

The aerodynamic behaviour of the drug/lactose blends was estimated with TSI making it possible to study the in-vitro deposition profile of fluticasone propionate and terbutaline sulphate respectively (Table 3).

Table 3: Emitted doses and fine particle fractions of the blends

Blends	Emitted Dose (% ± rsd)	Fine Particle fraction (% ± rsd)
Lactose A + TBS	78.4 (±2.2)	46.0 (±2.7)
Lactose B + TBS	85.5 (±13.2)	30.4 (±2.2)
Lactose A with no particles below 32 µm + TBS	78.5 (±3.7)	26.6 (±1.3)
Lactose B with no particles below 32 µm + TBS	89.0 (±2.2)	23.4 (±0.9)
Lactose A + FP	69.0 (±8.8)	25.2 (±3.7)
Lactose B + FP	76.9 (±0.5)	11.0 (±1.0)
Lactose A with no particles below 32 µm + FP	59.4 (±11.9)	9.4 (±2.8)
Lactose B with no particles below 32 µm + FP	72.3 (±6.9)	7.3 (±0.2)

The emitted doses obtained are between 78.4% and 89.0% for terbutaline sulphate, and between 59.4% and 76.9% for fluticasone propionate. For a given drug, the emitted dose varies according to the carrier considered. For a given carrier, the emitted dose is significantly higher for terbutaline sulphate ($p < 0.05$).

The fine particle fractions obtained were between 23.4% and 46.0% for terbutaline sulphate and between 7.3% and 25.2% for fluticasone propionate. Here again, for a given drug, the fine particle fractions vary between the different lactose qualities ($p < 0.005$).

Again, for a given lactose, the fine particle fraction strongly depends on the type of drug used ($p < 0.005$) with higher values obtained in the case of terbutaline sulphate. For both drugs, the fine particle fractions are highest in blends with lactose A (raw material, milled quality) that presents a greater proportion of lactose fine particles. The excess of fine lactose may agglomerate with the drug with adhesion forces lower than those obtain between the fine particles and the coarse carrier leading to higher fine particle fractions. It is also possible that a part of the aerosolized particles contains drug/lactose agglomerates with aerodynamic diameter lower than 6.4 μm . These results are in agreement with the adhesion test that shows lower adhesion on lactose A, with less drug adhered in the case of terbutaline sulphate.

3.5. Correlation between adhesion characteristics and inertial impaction

Results of drug separation from the carrier by jet-sieving were compared to those obtained by TSI. Figure 4 presents the relationship between fine particle fraction and the percentage of drug remaining on the 32 μm sieve of the air-jet sieve after 30 seconds. For both drugs, we note a linear relation with a regression coefficient R^2 of 0.9766 and 0.9785 for fluticasone propionate (Figure 4 a) and terbutaline sulphate (Figure 4 b) respectively which indicates a good correlation between these two parameters.

The method proposed using Alpine air-jet sieve makes it possible to characterize adhesion, to forecast drug detachment and to predict aerodynamic behaviour of the drug. Another advantage of this test is that it considers the whole blend as it is used in dry powder inhalers.

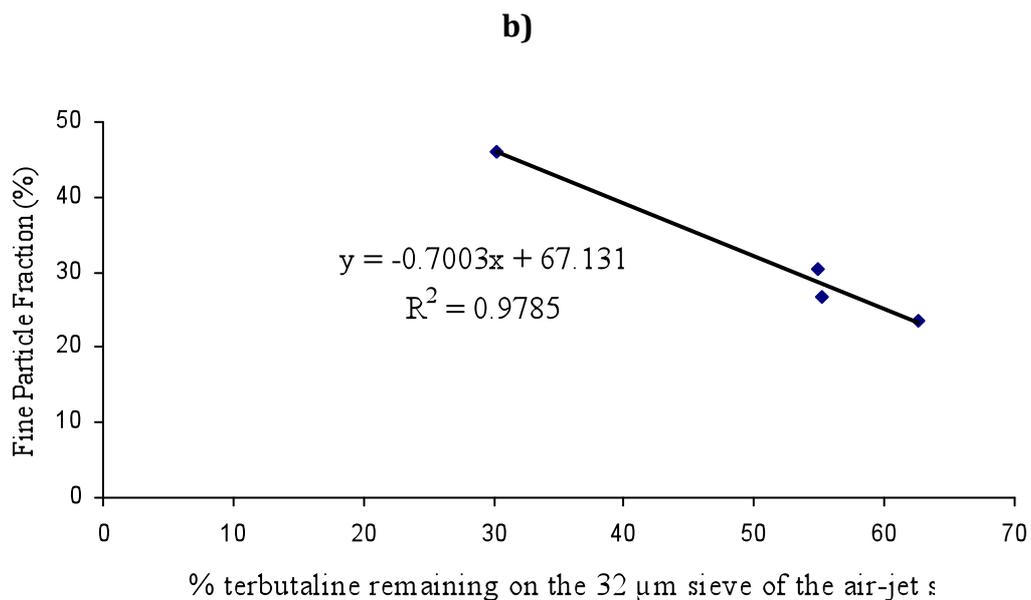
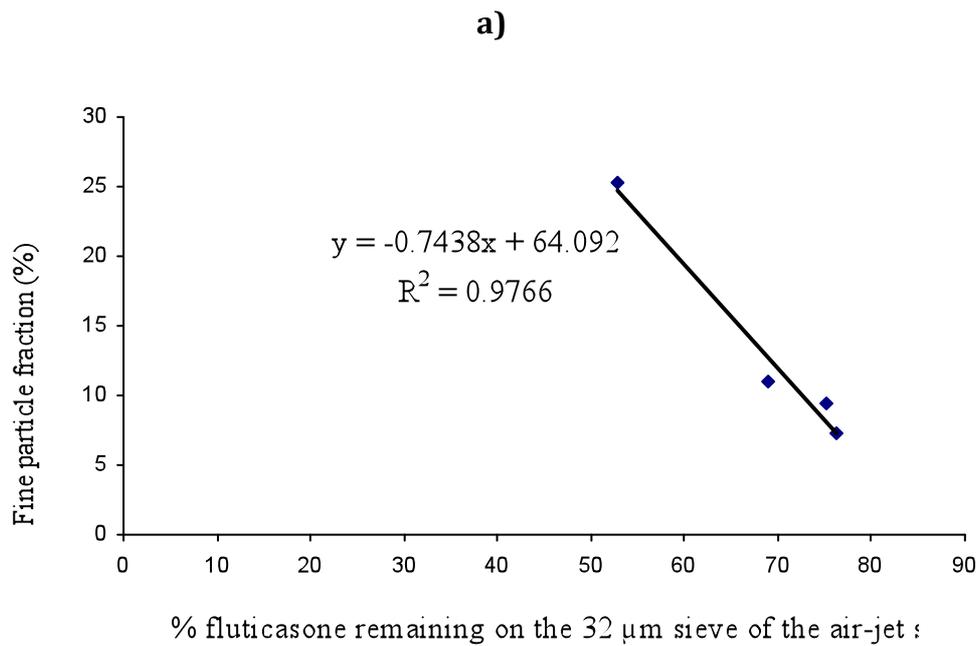


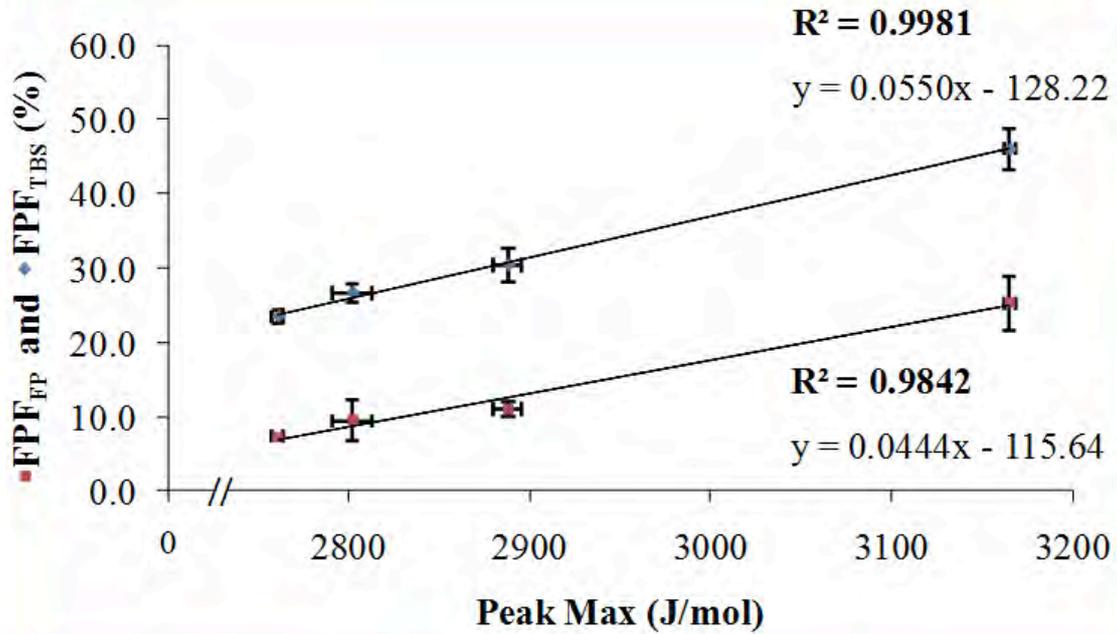
Figure 4. Relationship between percentage of drug remaining on sieve and fine particle fraction of Fluticasone (a) and Terbutaline (b)

3.6. Correlation between lactose qualities and inertial impaction

The used lactose qualities differed in terms of the fines' content which is due to the different preparation processes. Lactose A obtained by milling process contains more fine particles. The latter adhere to the surfaces of the larger crystals in edges and clefts, so the drug becomes adhered to the smoother surface of the crystal where it can

be removed more easily [16]. This was confirmed during the aerosolization tests: for both drugs, higher fine particle fractions are obtained with lactose A that possesses the highest fine particle content.

a)



b)

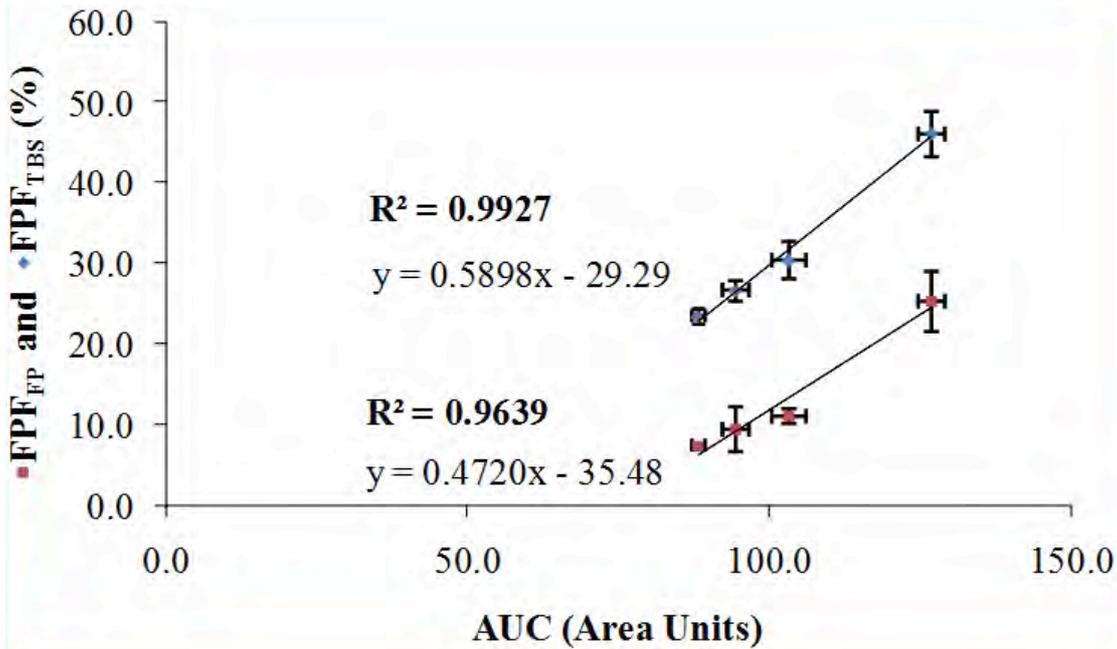


Figure 5. Relationship between Peak Max values (a) and AUCs (b) from iGC and fine particle fraction of Terbutaline and Fluticasone blends

A fairly good correlation between the fine particle fraction both of fluticasone propionate and terbutaline sulphate and the Peak Max value and the AUC, respectively ($R^2= 0.9842$, $R^2= 0.9981$, $R^2= 0.9639$, $R^2= 0.9927$) were found by means of the applied iGC method (Figures 5a 5b). In every case a positive slope of the straight line is obtained, for terbutaline sulphate slightly higher than for fluticasone propionate. With higher fine particle fraction, which corresponds to higher fines content, the peak maxima are shifted to higher adsorption potentials. This supports the agglomeration hypothesis.

To scan the lactose surface with ethyl acetate turned out to be a suitable method to describe the energetic surface heterogeneity of the lactose grades investigated and to reveal the potential of the lactose qualities regarding their performance for inhalation formulations.

Lactose grades	iGC heterogeneity plots obtained with ethyl acetate	
	Peak Max (J/mol)	AUC • 100,000
Lactose A	3165 (± 3)	126.9 (± 2.3)
Lactose B	2888 (± 8)	103.3 (± 2.8)
Lactose A with no particles below 32 μm	2802 (± 11)	94.5 (± 2.1)
Lactose B with no particles below 32 μm	2761 (± 3)	88.3 (± 1.1)

Table 4: Peak Max values and areas under the curves (AUC) of the iGC heterogeneity plots measured with ethyl acetate for the lactose grades (mean \pm span, n = 2).

(Lactose A: lactose carrier by milling; Lactose B: lactose carrier by sieving)

4. Conclusion

Lactose qualities A and B present a different behaviour when they are blended with 2 types of drugs presenting different polarities. Among the parameters tested, the differences are the preparation processes and the content of fine lactose particles. Lactose A obtained by milling process shows a higher adsorption potential measured by iGC and it contains more fine particles which could form agglomerates with the drug. Because of their increased detachment mass, drug particles may be more easily liberated from the coarse lactose in the airflow. With higher FPF values, which correspond to higher fines content, the peak maxima determined by iGC are shifted to higher adsorption potentials, which supports the agglomeration hypothesis. If the PeakMax value and the AUC from the surface heterogeneity plot are determined by iGC, the different lactose grades can be ranked in an order regarding their suitability for inhalation as carrier material in interactive mixtures, which follow the described agglomeration scheme.

References

- [1] teWierik, H., Diepenmaat, P., Damhuis R., 2002. Formulation of lactose for inhaled delivery systems. *Pharm.Tech.Eur.* 11, 1-5
- [2] Young, P.M., Edge, S., Traini, D., Jones, M.D., Price, R., El-Sabawi, D., Urry, C., Smith, C., 2005. The influence of dose on the performance of dry powder inhalation systems. *Int.J.Pharm.* 296, 26-33
- [3] Hersey, J.A., 1975. Ordered mixing: a new concept in powder mixing practice. *Powder Technol.* 11, 41-44
- [4] Bell, J., 1994. Dry powder inhalation technology. *Pharm. Manufact.Int.* 179-182
- [5] Prime, D., Atkins, P.J., Slater, A., Sumbly, B., 1997. Review of dry powder inhalers. *Adv.Drug Deliv.Rev.* 26, 51-58
- [6] Steckel, H., 2002. Inhalation powders - a simple dosage form for pulmonary delivery?. *Swiss Pharma.* 9a, 15-28
- [7] Steckel, H., Markefka, P., te Wierik, H., Kammelar, R., 2004. Functionality testing of inhalation grade lactose. *Eur.J.Pharm.Biopharm.* 57, 495-505
- [8] Zeng, X.M., Martin, G.P., Tee, S., Marriott, C., 1998. The role of fine particle lactose on the dispersion and deaggregation of salbutamol sulphate in an air stream in vitro. *Int.J.Pharm.* 176, 99-110

- [9] Guchardi, R., Frei, M., John, E., Kaerger, J.S., 2008. Influence of fine lactose and magnesium stearate on low dose dry powder inhaler formulations. *Int.J.Pharm.* 348, 10-17
- [10] Jones, M.D., Price, R., 2008. The influence of fine excipient particles on the performance of carrier-based dry powder inhalation formulations. *Pharm.Res.* 23, 8, 1665-1674
- [11] Lucas, P., Clarke, M.J., Anderson, K., Tobyn, M.J., Staniforth, J.N., 1998. The role of fine particle excipients in pharmaceutical dry powder aerosols. In: Dalby, R.N., Byron, P.R., Farr, S.J. (Eds.), *Proceedings of Respiratory Drug Delivery VI*. Interpharm, Buffalo Grove, IL, pp. 243 -250
- [12] Lucas, P., Anderson, K., Staniforth, J.N., 1998. Protein deposition from dry powder inhalers: fine particle multiplets as performance modifiers. *Pharm. Res.* 15, 562-569
- [13] Larhrib, H., Zeng, X.M., Martin, G.P., Marriott, C., Pritchard, J., 1999. The use of different grades of lactose as a carrier for aerosolised salbutamol. *Int.J.Pharm.*191,1-14
- [14] Louey, M.D., Stewart, P.J., 2002. Particle interactions involved in aerosol dispersion of ternary interactive mixtures. *Pharm.Res.* 19(10), 1524-1531
- [15] Adi, H., Larson, I., Chiou, H., Young, P., Traini, D., Stewart, P., 2006. Agglomerate strength and dispersion of salmeterol xinafoate from powder mixtures for inhalation. *Pharm.Res.* 23(11), 2556-2565
- [16] Steckel, H., Markefka, P., teWierik, H., Kammelar, R., 2006. Effect of milling and sieving on functionality of dry powder inhalation products. *Int.J.Pharm.* 309, 51-59

Chapitre 4

AIR PERMEABILITY OF POWDER: A POTENTIAL TOOL FOR DRY POWDER INHALER FORMULATION DEVELOPMENT

V.N.P. Le^{1,2}, E. Robins³, M.P. Flament^{1,2,*}

(Article publié dans le Journal European Journal of Pharmaceutics and
Biopharmaceutics, vol 76 (2010) 464-469)

¹ Université Lille Nord de France, College of Pharmacy, Lille, France

*To Whom correspondance should be addressed.

Tel : 00. 33. 3. 20. 96. 49. 74. Fax : 00. 33. 3. 20. 95. 90. 09

e-mail : marie-pierre.flament@univ-lille2.fr

² INSERM U 1008, Controlled Drug Delivery Systems and Biomaterials, Lille, France

³ APTAR Pharma, Route des Falaises, BP 37, 27100 Le Vaudreuil, France

Abstract

Dry Powder Inhalers have drawn great attention from pharmaceutical scientists in recent years in particular those consisting of low-dose micronized drug particles associated with larger carrier particles and called interactive mixtures. However, there is little understanding on the relation between bulk powder properties such as powder structure and its aerodynamic dispersion performance. The aim of this work was to develop a simple method to measure the air permeability of interactive mixtures used in dry powder inhalers by using Blaine's apparatus - a compendial permeameter and to relate it to the aerodynamic behaviour. The study was done with fluticasone propionate and terbutaline sulphate as drug models that were blended with several lactoses having different particle size distribution thus containing different percentages of fine particle lactose. The quality of the blends was examined by analyzing the drug content uniformity. Aerodynamic evaluation of fine particle fraction was obtained using a Twin Stage Impinger. A linear correlation between a bulk property – air permeability of packed powder bed – and the fine particle fraction of drug was observed for the tested drugs. The air permeability reflects the quantity of the free particle fraction in the inter-particulate spaces of powder bed that leads to fine particle fraction during fluidization in air flow. A theoretical approach was developed in order to link the air permeability of powder bed and drag force acting on powders during aerosolisation process. The permeability technique developed in this study provides a potential tool for screening dry powder inhaler formulations at the development stage.

Keywords: Permeability, DPI performance, Fluticasone, Terbutaline, powder aerosolisation.

Introduction

Dry Powder Inhalers (DPI) have drawn great attention in recent years because of various advantages, such as being free from propellants, ease of use with a portable small device and overcoming the problem of patient coordination. [1-3]. The typical size of respirable particles is generally less than 5 micrometers. In this size range, the intrinsic cohesiveness of small particles opposes their conversion from a bulk powder to an aerosol by airflow. Formulations with fine drug particles and coarse carrier particles, usually lactose, have been commonly used to facilitate dispersion and flow [4]. In this so-called ordered mixture or more recently interactive mixture [5], the fine drug particles are expected to adhere to the carrier surface to produce a homogenous mixture. In reality, perfect examples of ordered mixture are rarely found and the powder structure is much more complex. In a mixture of very cohesive micronized drug particles, agglomerates of drug may occur and the mixture contains ordered units and also drug agglomerates. Additionally, a concept "total mix" was developed [6]. Total mix is composed of both random (drug particles alone and carrier particles alone) and ordered units (drug particles adhered onto carrier particles surface and carrier particles onto drug particle surface). In order to effectively deliver drug into the lungs, the turbulent air stream created by any Dry Powder Inhaler must provide adequate power to disperse the powder and to produce a cloud of respirable particles [1,4]. The fluidization of cohesive powder was researched in recent years. The fluidization of fine particle powders was characterized by the direct transition from rigid-plastic state to a gas-fluidized state without passing through an inertial step [7]. In order to fluidize a cohesive powder the gas flow has to overcome not only the weight of the powder, but also its tensile strength. When particles are very fine the inter-particulate cohesive forces become dominant and the minimum velocity for fluidization becomes less dependent on the particle diameter [7,8]. Nevertheless, the understanding of the interaction between bulk powder and air stream and the transformation from a powder state to a disperse state are still lacking [9]. Recently, some authors have examined the dynamic and bulk powder properties in order to explain the mechanisms that dominate Dry Powder Inhaler performance. The increased resistance to airflow of powder was found to enhance the intensity of the dispersion process. [10]. However, no further

investigations have been performed in order to elucidate the relationship between these parameters and the performance.

Permeability methods are well known for measurements of specific surface area of fine particulate materials in different industries. In reality, the permeameter does not measure surface area but the structure of the air pathways through the powder mixture. Permeability studies of powder mixture can actually generate information on the changes in the internal pore structure of the mixture as the ingredients of the mixture intermingle [11]. Permeametry was used to study the ordered mixture structure of drug-larger size and glidants - smaller size [12]. The authors stated two distinct behaviours of glidants. After a threshold of glidant concentration, the powder permeability decreases. They speculated that for small quantity of glidant, their particles are principally adhered onto the surface of drug and there are not enough fine particles present in the pore of powder bed. So the permeability remained unchanged. Above this threshold, the glidant particles are dispersed in the mixture and fill the interparticular space that generates the decrease in permeability. In the second type of glidants, a progressive decrease in powder permeability is noted with its addition. The glidant particles do not adhere to the larger particles and distribute into the pore systems of the powder bed. Thus, the structure of a binary mixture was elucidated. Developing this technique, Traisnel, M et col., [13] studied the distribution of different component in ternary mixtures of lactose, sodium salicylate and magnesium stearate. It is shown that magnesium stearate can bring out two types of distribution of components depending on the order in which it is added.

The aim of this work was to develop a simple method to measure the permeability of interactive mixtures used in Dry Powder Inhalers by using Blaine's apparatus - a compendial permeameter [14]. Then the relationship between the air permeability of powder and Dry Powder Inhaler performance was investigated.

Theoretical Considerations

In the nineteenth century, Darcy (1856), when observing the laminar flow of water through a packed bed of sand, proposed the relationship [15]:

$$U = \frac{K}{\eta} \times \frac{-\Delta P}{L} \quad (1)$$

Where U is the superficial fluid velocity through the bed and the ΔP is the pressure drop across a bed depth L . K is designed as the intrinsic permeability of packed bed and η is the fluid viscosity. If this equation is applied to a fixed weight of powder bed and noted the sample permeability K' , K' can be determined as:

$$K' = \frac{K}{L} \quad (2)$$

The equation (1) can be rewritten as the following equation:

$$U = \frac{K' \times (-\Delta P)}{\eta} \quad (3)$$

In Blaine's apparatus, U and ΔP vary in function of time. In the time interval Δt the fluid flow is $\alpha \Delta H$, where ΔH is the decrease in the pressure head in time Δt and α is the cross-sectional area of the manometer [16,17]. In the equation (1), U represents the fluid volumetric flow rate (Q) per cross-sectional area of powder bed (A). Therefore, the quantity flowing per unit time is given by the term $\alpha \Delta H / \Delta t$. Substituting this expression in the equation (3) and rearranging terms, we have

$$\frac{\Delta H}{H} = \frac{A}{\alpha} \times \frac{K' \times \rho_f}{\eta} \times \Delta t \quad (4)$$

With ρ_f is the fluid density.

Integrating this equation within the time T of fluid fall from H_1 to H_2 of Blaine's apparatus, we obtain

$$\ln \frac{H_1}{H_2} = \frac{A}{\alpha} \times \frac{K' \times \rho_f}{\eta} \times T \quad (5)$$

In the Blaine apparatus, H_1 , H_2 , A , α are constant. The relationship between the powder permeability and air time flow through powder bed can be described as following equation:

$$K' = C \times \frac{\eta}{\rho_f \times T} \quad (6)$$

with C being a constant, taking into account Blaine's apparatus parameters H_1 , H_2 , A , α . The permeability has then a reciprocal relationship with airflow time.

Material and methods

Micronized fluticasone propionate (FP) and terbutaline sulphate (TBS) were used as supplied. Inhalac 230 (Meggle, Wasserburg, Germany) and Lactohale 200 (Borculo

Domo, Zwolle, The Netherlands) were used as carrier. Furthermore, 2 grades of carrier lactose without fines were prepared from Inhalac 230 and Lactohale 200 by air-jet sieving through a 32 μm sieve for 30 minutes with an airflow that produces a pressure drop of 4 kPa. Inhalac 230 without fines and Lactohale 200 without fines were only used after at least 24 hours following sieving so that the electrostatic charges, if there is any, may decay.

Powder characterisation

Particle size was measured by laser diffraction (Malvern Mastersizer 2000®, Malvern Instrument Ltd, Orsay, France) in liquid dispersion using the 300 RF lens and the small volume sample presentation unit.

For lactose, the dispersing medium was 0.5% Polysorbate 80 (Tween 80) in absolute ethanol saturated by lactose over 24 h and filtered through 0.25 μm prior to analysis. Lactose was dispersed in the dispersing medium for 3 min by magnetic agitation. The sample was further treated with sonication in a water bath for 1 min. Sample was added into sample cell containing the dispersing medium in order to obtain an obscuration between 10 -30%. For fluticasone propionate, the dispersing medium was ethanol/water 10/90 (% v/v) with 0.1% Polysorbate 80, saturated by fluticasone propionate. In the case of terbutaline sulphate, 0.1% Sorbitan oleate 85 in cyclohexan saturated with terbutaline sulphate was used. Size measurement of each sample was performed using 2000 sweeps. Size distribution and summary statistics are the average of at least three determinations. For each measurement, the mean diameter, the median diameter, the diameter under which 10% particles ($d_{v,0.1}$) and 90% particles ($d_{v,0.9}$) were in consideration.

The true density of powder was assessed by helium pycnometer (AccuPyc 1330, Micromeritics, USA) using a 3 cm^3 sample cell. The results are expressed as the average of ten determinations.

Mixing conditions and evaluation

Terbutaline sulphate (TBS) and lactose were mixed in a ratio of 1:67.5 w/w, in a Turbula mixer (Bachofen Maschinenfabrik, Basel, Switzerland) for 2 hours at 90 rpm. Each blend was prepared in 100 g quantities in glass vessels adapted for Turbula mixer. The mixing was performed at controlled ambient conditions (40 ± 5 % relative humidity

and 20 ± 2 °C). Fluticasone propionate (FP) and lactose were mixed at a concentration of 2.5% w/w in the same conditions.

The quality of the blends was expressed by the coefficient of variation (cv) of sample drug content. In case of FP mixtures, fifteen randomly selected samples (20.0 ± 0.2 mg) were dissolved in methanol/water 70/30 (% v/v) using 25 mL volumetric flasks. Sonication ensured the total dissolution of drug. All fluticasone propionate samples were analysed by a validated HPLC method using an ODS chromatographic column, 50 x 4.6 mm x mm. 5 µm (Phenomenex). Mobile phase is composed of methanol/0.1% acetate buffer in 80/20 (% v/v) ratio, and was passed through a filter of 0.25 µm prior to use. The flow rate was 1 mL/min and fluticasone propionate was detected at 336 nm. A linear range was obtained from 0.01 to 23.0 µg/ml ($r^2=0.996$). Quantitative analysis was carried out by BeckMann spectrophotometer at a wavelength of 276 nm for terbutaline sulphate. Fifteen randomly selected samples (34.25 ± 0.25 mg) were dissolved in water using 25 mL volumetric flasks. A linear range was obtained from 0.001 to 0.1 mg/mL ($r^2=0.9999$).

Aerodynamic evaluation

Each formulation was manually loaded into size 3 gelatine capsules (donated by Capsugel, France). Fill weight was $20,0 \pm 0.2$ mg for fluticasone propionate mixtures and 34.25 ± 0.25 mg for terbutaline sulfate mixtures giving the nominal dose of 500 ± 5 µg drug per capsule. Following filling, capsules were stored at 40 ± 5 % relative humidity and 20 ± 2 °C for at least 24 hours prior to analysis.

Aerodynamic evaluation of fine particle fraction and emitted dose were obtained using a Twin Stage Impinger (TSI, Apparatus A, European Pharmacopoeia, 2008). Each deposition experiment involved the aerosolization at 60 l/min via an Inhalator Ingelheim of 5 capsules. All stages of the Twin Stage Impinger were filled with Water/Methanol 30/70 % v/v for fluticasone propionate and water for terbutaline sulphate. The quantity of drug was determined by the methods previously described in mixture quality evaluation. For each blend, the assays were performed in triplicate. All experiments were performed in controlled temperature and relative humidity (40 ± 5 % relative humidity and 20 ± 2 °C).

- the emitted dose (ED) was the sum of drug collected from the upper and lower stages

- the fine particle dose (FPD) is defined as the amount of drug deposited in the lower stages of the TSI, since their aerodynamic diameter was less than the cut-off diameter of the TSI ($6.4 \mu\text{m}$ at an airflow rate of 60 l/min),
- the percentage emission was calculated as the ratio of ED to the average capsule content
- the fine particle fraction was calculated as the ratio of FPD to the emitted dose.

Air permeametry

The air permeability of powder mixtures was measured by means of a Blaine apparatus - the permeameter described in European Pharmacopoeia 6.0, normally used for determination of specific surface area [14] . The apparatus consists of 2 parts: (I) a permeability cell and (II) U-tube manometer (Figure 1).

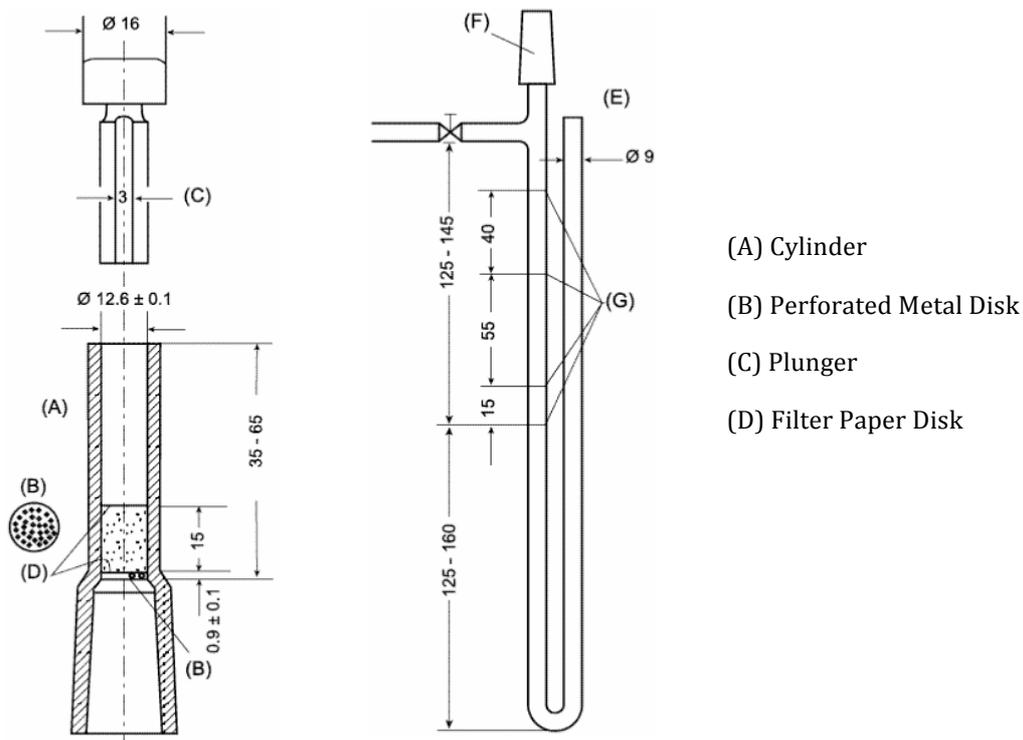


Figure 1: EP Apparatus for air permeability – (*Dimensions in millimeters*)

A modified procedure for investigating the structure of powder was developed. A critical point of this procedure is that no force is exerted on the powder bed in order to maintain the un-modified powder structure.

Place a filter paper disk on top of the perforated metal disk of the permeability cell. Weigh and carefully transfer $1.590 (\pm 0.005) \text{ g}$ of the examined powder into the

permeability cell. Carefully tap the cell 5 times so that the surface of the powder bed is levelled and cover it with a second filter paper disk by means of a 10g pencil without applying pressure. Attach firmly the permeability cell to the tube of manometer and carefully prevent an air pulse moving up through the powder bed when mounted. Check that the system is airtight. Evacuate the air from the manometer by means of a rubber bulb until the level of liquid is at the highest mark. Using a timer, measure the time taken for the liquid to fall from second to third mark of the manometer. Repeat 8 times for measuring the airflow time through each powder bed. Three samples are analysed. The results are calculated as the mean of the 24 measurements.

Powder permeability by mercury porosimetry

Powder permeability was assessed by mercury intrusion porosimetry (Micromeritics® Autopore IV 9500). Mercury pressure working range was from 0.0034 MPa to 15 MPa in order to avoid particle compression or collapse due to high pressure. 1 (± 0.02) g of powder sample was used. In order to avoid the influence of contact angle on the result, only lactose samples were measured. The values obtained will be compared with those obtained with Blaine's apparatus on the samples of lactose alone. This is to validate the method developed with the Blaine's apparatus. If we have a good correlation between the 2 methods for lactose, we can suppose that it will be the case for the drug/lactose blends. Permeability is calculated from characteristic length of sample by Katz and Thompson's equation [18]. The latter was experimentally determined based on pressure at which the percolation begins.

Results and discussion

Powder characterisation

Saturation of the dispersing medium with sample prevents the possible dissolution during the measurements. Sonication is believed to aid the complete agglomerate separation into primary particles. Sample observation by optical microscope (40 and 100 times magnification) demonstrated the complete dispersion of fine particles and no particle fragmentation was detected. Table 1 gives an overview of particle characterisation of drugs and carriers. Air depression sieving removed successfully the fine fraction of lactose. The mass median diameter of drugs is about 3.23 μm for

fluticasone propionate and 3.40 μm for terbutaline sulphate, and is adequate for deep penetration into the lungs.

	D_{4,3} (μm)	d_{v,0.1} (μm)	d_{v,0.5} (μm)	d_{v,0.9} (μm)	Density (g/ml)
Terbutaline sulfate	3.40 (± 0.01)	1.38 (± 0.02)	3.07 (± 0.03)	5.93 (± 0.15)	1.37 (± 0.009)
Fluticasone Propionate	3.23 (± 0.04)	0.51 (± 0.01)	2.69 (± 0.03)	6.69 (± 0.10)	1.38 (± 0.004)
Lactohale 200	73.84 (± 0.84)	10.75 (± 0.77)	67.84 (± 0.45)	143.64 (± 1.60)	1.54 (± 0.0016)
Inhalac 230	69.13 (± 3.16)	16.97 (± 2.97)	67.54 (± 3.90)	122.46 (± 2.54)	1.5427 (± 0.001)
Lactohale 200 without fines	91.32 (± 1.00)	41.02 (± 1.08)	88.81 (± 1.94)	147.78 (± 1.67)	1.5370 (± 0.0013)
Inhalac 230 without fines	79.36 (± 3.99)	34.26 (± 6.25)	78.92 (± 3.92)	126.64 (± 4.28)	1.5383 (± 0.0012)

Table 1: Powder characteristics

Air permeability by Blaine Apparatus vs permeability determined by mercury porosimetry

Permeability is an important property of porous materials. There have been many attempts to relate permeability to some relevant micro-structurally defined length scale. In a study of rock permeability using mercury injection measurements, Katz and Thompson have recently derived, using percolation theory, a prediction for the ratio of permeability to electrical conductivity. The permeability (k) was expressed as [18]:

$$k = \frac{1}{226} (L_c)^2 \left(\frac{\sigma}{\sigma_0} \right) \quad (7)$$

Where L_c is characteristic length and σ/σ_0 is the conductivity formation factor.

The characteristic length was determined from the mercury intrusion in the following way. If the pore space is sequentially built up starting with the largest pores and working down, then L_c is the diameter of the pore that just completes the first continuous pathway through the material. This pathway then consists only of pores with diameter greater than or equal to L_c . In practice, to obtain this characteristic length L_c , pressure is determined at the point of inflection in the rapidly increasing range of the cumulative intrusion curve. This inflection point corresponds closely to the pressure at which percolation begins. This pressure point is defined as the threshold pressure (P_t). The value of L_c is the pore diameter calculated from the Washburn equation for P_t . An estimation of conductivity formation factor σ/σ_0 makes the calculation of permeability from mercury intrusion possible.

	Pore Structure Summary			Blaine Apparatus	
	Threshold Pressure	Characteristic length	Permeability	Permeability	1/t
	Calculated MPa	(μm)	(Darcy)	(s)	(1/s)
Lactohale 200 total	0.071	17.58	440.02	4.73	0.21
Fraction 125-90 μm	0.037	33.62	2290.44	1.25	0.80
Fraction 90-63 μm	0.048	26.07	1415.91	1.74	0.57
Fraction 63-40 μm	0.058	21.36	864.72	2.23	0.45
Lactohale 200 >32 μm	0.051	24.55	1096.57	2.12	0.47
Inhalac 230	0.052	23.84	1102.47	2.24	0.45

Table 2: Air permeability by the Blaine Apparatus and by mercury porosimetry

The results of powder permeability determined by the Blaine apparatus and mercury porosimetry are presented in table 2. As developed in equation (6), the permeability has a reciprocal relationship with time for air passing through the powder bed in the Blaine apparatus. The results in figure 2 demonstrate a good linear relationship ($R^2 = 0.9618$) between permeability determined by mercury porosimetry and the reciprocal of airflow time obtained with the Blaine apparatus. Thus, the Blaine apparatus is a good method to estimate the permeability of powder. However, air permeability avoids the influence of contact angle in interaction between mercury and sample, especially for a mixture of different materials. Consequently, the air permeability is the chosen method for further investigation on mixture behaviours.

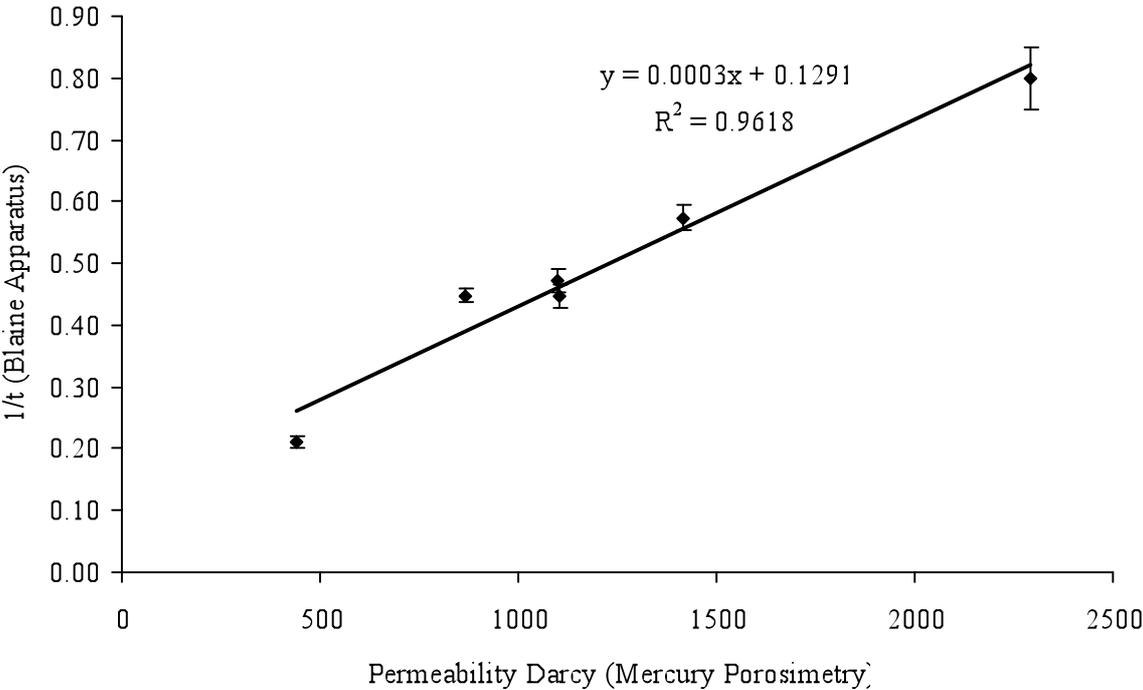


Figure 2: Relationship between permeabilities of powders, Darcy (mercury porosimetry) and 1/t (Blaine apparatus) (Mean +/- SD, n = 24)

Mixture characteristics

All blends are acceptably homogenous with coefficient of variation less than 5%. The recovered drug contents are close to the theoretical values (Table 3), 1.46% in the case of TBS and 2.5% for FP. All individual recovery was comfortably within 85-115% of label claim, suggesting that homogeneous blends were obtained for both drugs and lactose.

Blends	Average drug content (%)	CV (%)
Lactohale 200 + TBS	1.44%	3.05%
Inhalac 230 + TBS	1.46%	0.86%
Lactohale 200 without fines +TBS	1.43%	0.62%
Inhalac 230 without fines +TBS	1.46%	0.58%
Lactohale 200 + FP	2.47%	2.17%
Inhalac 230 + FP	2.43%	3.87%
Lactohale 200 without fines + FP	2.42%	2.06%
Inhalac without fines + FP	2.45%	3.39%

Table 3: Quality of powder blends blends (mean \pm SD) CV: coefficient of variation

Table 4 presents air flow times for the different blends with terbutaline sulphate. The air permeability values are similar for the mixtures with Lactohale 200 without fines and Inhalac 230 with or without fines, whereas the mixture with Lactohale 200 provides greatest resistance to air flow. Lactohale 200 has the highest percentage of fine particles. The performance of powder blends, in terms of fine particle fraction (FPF) is also presented in table 4. A good linear correlation between the air flow time through the powder mixture bed and FPF of terbutaline sulphate can be seen in Figure 3, when plotting FPF versus air flow time ($R^2=0.9892$).

Blends	Air Flow Time(s)	FFP (%)
Lactohale 200 + TBS	5.95 (± 0.42)	46.02 (± 2.77)
Inhalac 230 + TBS	3.20 (± 3.20)	30.63 (± 2.26)
Lactohale 200 without fines +TBS	2.72 (± 0.09)	26.60 (± 1.28)
Inhalac 230 without fines +TBS	2.44 (± 0.10)	23.43 (± 0.95)

Table 4: Air flow time and fine particle fraction (FFP) of terbutaline sulphate (TBS)

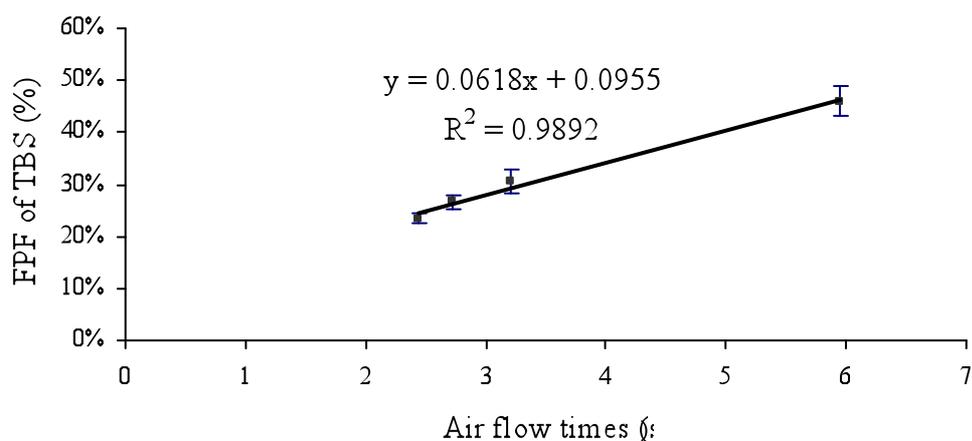


Figure 3: Fine particle fraction of terbutaline sulphate vs air flow time (Mean ± SD, n = 3)

The same observation is found with the interactive mixtures of fluticasone propionate. The table 5 lists the values of airflow time and fine particle fraction for the different blends of fluticasone propionate. A good correlation between air resistance of powder mixtures and the fine particle fraction of drug is observed in figure 4 ($R^2=0.9971$).

Blends	Air Flow Time (s)	FFP (%)
Lactohale 200 + FP	9.37 (\pm 0,48)	25.25 (\pm 3.70)
Inhalac 230 + FP	4.36 (\pm 0,09)	11.02 (\pm 0.99)
Lactohale 200 without fines + FP	3.38 (\pm 0,10)	9.41 (\pm 2.78)
Inhalac without fines + FP	2.89 (\pm 0,08)	7.34 (\pm 0.19)

Table 5: Air-flow time and fine particle fraction (FPF) of fluticasone propionate mixtures (mean \pm SD)

In order to check the supposed relationship between air flow time through the powder bed and *in vitro* DPI performance, a mixture of fluticasone propionate with a ternary agent was performed. For this purpose, 0.5% w/w of magnesium stearate (MgSt) was blended with Lactohale 200 in a Turbula mixer for 3 hours at 90 rpm. Then, 2.5% w/w of fluticasone propionate was added and mixed for 3 hours. The table 6 presents the characteristics of this mixture.

	Mean	SD
Drug content (%)	2.05	13.55
Air Flow times (s)	17.24	1.13
FPF (%)	50.28	2.46

Table 6: Characteristics of the 0.5% w/w magnesium stearate/ 2.5% w/w FP/Lactohale 200 blend.

Interestingly, when the values of this blend of Lactohale 200 – 0.5 % Magnesium Stearate and 2.5% FP are considered together with values of previous FP mixtures, a

linear relationship between the air flow time and DPI performance is respected with a coefficient R^2 of 0.9981 which indicates a good correlation between these two parameters.

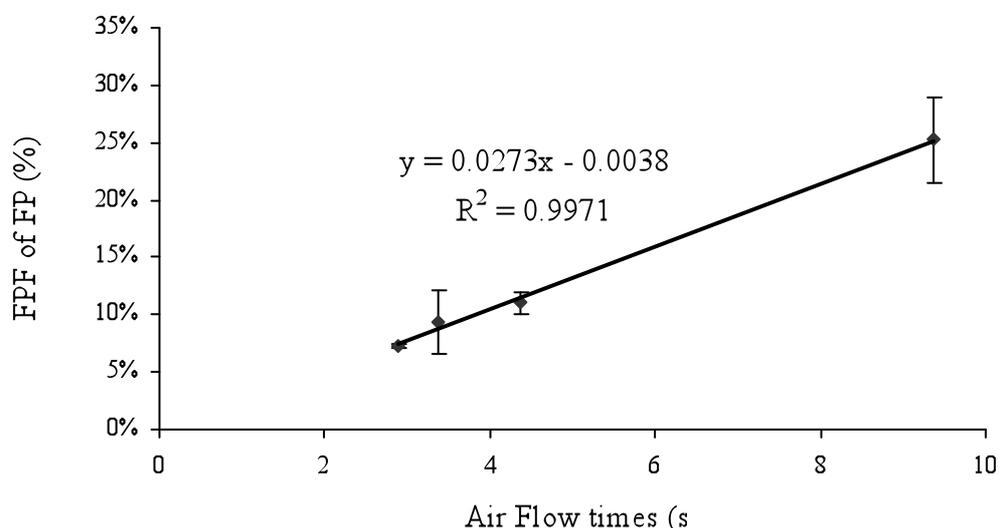


Figure 4: Fine particle fractions of fluticasone propionate vs air flow time (Mean \pm SD, n = 3)

An increase in the *in vitro* DPI performance is observed with an increase in resistance to air flow through powder bed, regardless the active ingredient in the mixture. The air permeability of packed bed reflects the powder structure. In the interactive mixtures, only a fraction of fine drug particles adheres to the high-energy sites on the carrier. When these sites are saturated, the remaining particles adhere to other sites of lower energy from which they are more easily dislodged, or distribute themselves in a random way in the blend. The free fine particles in the inter-particle spaces of a packed powder bed lead to greater resistance to air flow. Thus, the powder structure is very complex but can be assessed by the permeability technique. Because the free fine particle fraction can be easily entrained in the air flow, a better fine particle fraction is produced when a more air resistant powder bed is observed.

Furthermore, an explanation of this finding is that the force induced by air flow through a packed bed is linked to the latter's air resistance. The greater the air

resistance of the powder bed is, the greater the importance of the force exerting on powder plug is.

In turbulent regime of air stream (high Reynolds number), the Darcy's equation is empirically modified as follow [19] :

$$-\Delta P = \frac{\eta U}{K'} + \frac{F\rho_f|U|U}{\sqrt{K'}} \quad (7)$$

From this relationship, we can observe that the greater the air stream velocity is and the smaller the permeability is, the greater is the pressure drop across the powder bed when aerosolisation occurs. The increase in the pressure drop gives rise to a bigger aerodynamic drag force that can be exerted upon the powder. As a consequence, when the flow rate increases and the air permeability of powder bed decreases, the aerodynamic dispersion of a DPI powder is improved.

Further studies on permeability of powder beds can give a deeper understanding of powder structure. The Kozeny-Carman equation was established as a formula for interpreting the data from permeability measurements [16].

$$U = \frac{\varepsilon^3}{(1-\varepsilon)^2} \frac{\Delta P}{B\eta L S_w^2 \rho^2} \quad (8)$$

Where ε is the porosity of powder bed

S_w^2 is surface area per unit weight of the powder

ρ is the density of powder

B is the constant, taken the aspect factor.

By rearrangement the equations (3) and (8), the powder permeability can be expressed as follow:

$$K' = \frac{\varepsilon^3}{(1-\varepsilon)^2 B S_w^2 \rho^2} \quad (9)$$

Thus, the powder permeability depends on bed porosity, density of powder and surface area of powder, which depends on particle size.

This equation could explain the relationship between the carrier size and aerodynamic performance of DPI formulations. The smaller the particle size of the carrier, the larger the surface area is. That produces a more air resistant powder bed and greater pressure differential across the powder bed when aerosolized. This supports the fact that the FPF increased with decreasing carrier size as observed in previous papers [20-22]. However finer particles can produce agglomerates that decrease the real surface area of the

powder exposed to the air stream. This hypothesis was consistent with previous findings where FPF increased with increasing percentage of added fine lactose but further additions of fine lactose greater than a threshold, decreased FPF [21].

This finding leads to an interesting approach to improve the aerodynamic dispersion of DPI formulations based on powder structure. Higher density, non-agglomerate and easy packing carriers could be used to produce a more air resistant powder bed.

In this case, we can say that the relationship between air permeability of powder bed and aerodynamic dispersion depends on drug properties. In the case of terbutaline sulphate, a small resistance to air flow of the powder bed can result in a good *in vitro* DPI performance, i.e, air flow time of 5.95 s of mixture Lactohale 200 – TBS can give a FPF of 46.02%. However, a longer air flow time of FP mixture with Magnesium Stearate, 17.24 s is required to give a similar FPF of drug, e.g 50.28%. More research is needed to relate the drug properties and its aerosolisation.

This novel method provides a potential tool for Dry Powder Inhaler formulation development work. Here, permeability measurements are used in order to investigate the influence of ternary component on *in vitro* DPI performance.

Conclusion

In this study, we found a good linear correlation between a bulk property of powder – air permeability of powder bed – and the fine particle fraction of drug. An increase in the *in vitro* Dry Powder Inhaler performance is noted with an increase in airflow time through the powder bed. An explanation of this finding is that the force induced by airflow through a packed bed is linked to the latter's air resistance. The powder structure also plays an important role in the interaction between airflow and the powder bed. Air permeability reflects the quantity of the free particle fraction in the interparticular spaces of powder bed that leads to fine particle fraction during fluidization in airflow. More fundamental research is needed to elucidate the aerodynamic dispersion of powder, linking it with their bulk properties. The permeability technique provides a potential tool for screening Dry Powder Inhaler formulations at the development stage.

References

1. Timsina M, Martin G, Marriott C, Ganderton D. Drug delivery to the respiratory tract using dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*. 1994;101:1-13.
2. Finlay WH. Dry powder inhalers [Internet]. In: *The Mechanics of Inhaled Pharmaceutical Aerosols*. London: Academic Press; 2001
3. Martin G, Onyechi J, Marriott C. Future prospects for pulmonary delivery of drugs. *S.T.P Pharma Sciences*. 1994;4(1):5-10.
4. Kassem N, Ganderton D. Dry Powder Inhalers. In: *Advances in Pharmaceutical Sciences*. London: Academic Press; 1992. p. 165-191.
5. Hersey JA. Ordered mixing: A new concept in powder mixing practice. *Powder Technology*. 1975;11(1):41-44.
6. Staniforth JN. British Pharmaceutical Conference Science Award lecture 1986. Order out of chaos. *J. Pharm. Pharmacol*. 1987 May;39(5):329-334.
7. Castellanos A, Valverde JM, Perez AT, Ramos A, Watson PK. Flow Regimes in Fine Cohesive Powders. *Phys. Rev. Lett*. 1999 Février 8;82(6):1156.
8. Valverde JM, Castellanos A. Types of gas fluidization of cohesive granular materials. *Phys. Rev. E*. 2007 Mar 26;75(3):031306.
9. Calvert G, Ghadiri M, Tweedie R. Aerodynamic dispersion of cohesive powders: A review of understanding and technology. *Advanced Powder Technology*. 2009 Jan;20(1):4-16.
10. Freeman T, Price R. Dynamic Powder Characterisation for DPI formulations. *Drug Delivery Technology*. 2009 May;;50-55.
11. Kaye BH. Characterizing a powder mixture by its permeability. In: *Powder mixing*. Springer; 1997. p. 100-105.
12. Merle C, Gayot A, Guyot J, Traisnel M. Application of Permeametry to the study of Behaviour of Mixture. *Acta Pharmaceutica Technologica*. 1979;25(3):193-201.
13. Merle C, Gayot A, Traisnel M. Application of permeametry to study the distribution of component in a ternary powder mixture. *International Journal of Pharmaceutical Technology and Product Manufacture*. 1984;5(1):25-28.
14. European Pharmacopeia. Specific Surface Area by Air Permeability. In: *European Pharmacopeia*. Strasbourg, France: Council of Europe; 2008. p. 284-295.
15. Hickey AJ, Ganderton D. *Pharmaceutical process engineering*. Informa Health Care; 2001.
16. Kaye B. Permeability techniques for characterizing fine powders. *Powder Technology*. 1967 Février;1(1):11-22.
17. Eriksson M, Nyström C, Alderborn G. Evaluation of a permeametry technique for surface area measurements of coarse particulate materials. *International Journal of Pharmaceutics*.

1990 Sep 30;63(3):189-199.

18. Webb PA. An Introduction to the Physical Characterization of Materials by Mercury Porosimetry with Emphasis on Reduction and Presentation of Experimental data. 2001;
19. Hsu chin-Tsau. Dynamic Modelling of Convective heat transfer in Porous Media. In: Handbook of porous media. CRC Press; 2005. p. 41-79.
20. Guenette E, Barrett A, Kraus D, Brody R, Harding L, Magee G. Understanding the effect of lactose particle size on the properties of DPI formulations using experimental design. International Journal of Pharmaceutics. 2009 Oct 1;380(1-2):80-88.
21. Louey MD, Razia S, Stewart PJ. Influence of physico-chemical carrier properties on the in vitro aerosol deposition from interactive mixtures. International Journal of Pharmaceutics. 2003 Février 18;252(1-2):87-98.
22. Steckel H, Müller BW. In vitro evaluation of dry powder inhalers II: influence of carrier particle size and concentration on in vitro deposition. International Journal of Pharmaceutics. 1997 Août 12;154(1):31-37.

Chapitre 5

AGGLOMERATE BEHAVIOUR OF FLUTICASONE PROPIONATE WITHIN DRY POWDER INHALER FORMULATIONS. INFLUENCE OF LACTOSE SIZE AND MIXNG CONDITIONS

V.N.P. Le^{2,2}, E. Robins³, M.P. Flament^{1,2,*}

(Article soumis)

² Université Lille Nord de France, College of Pharmacy, Lille, France

*To Whom correspondance should be addressed.

Tel : 00. 33. 3. 20. 96. 49. 74. Fax : 00. 33. 3. 20. 95. 90. 09

e-mail : marie-pierre.flament@univ-lille2.fr

² INSERM U 1008, Controlled Drug Delivery Systems and Biomaterials, Lille, France

³ APTAR Pharma, Route des Falaises, BP 37, 27100 Le Vaudreuil, France

Abstract

Due to their small size, the respirable drug particles tend to form agglomerates which prevent flowing and aerosolisation. A carrier is used to be mixed with drug in one hand to facilitate the powder flow during manufacturing, in other hand to aid the fluidisation upon patient inhalation. Depending on drug concentration, drug agglomerates can be formed in the mixture. The aim of this work was to study the agglomeration behaviour of fluticasone propionate (FP) within interactive mixtures for inhalation. The agglomerate phenomenon of fluticasone propionate after mixing with different fractions of lactose without fine particles of lactose (smaller than 32 μm) was demonstrated by the optical microscopy observation. A technique measuring the FP size in the mixture was developed, based on laser diffraction method. The FP agglomerate sizes were found to be in a linear correlation with the pore size of the carrier powder bed ($R^2 = 0.9382$). The latter depends on the particle size distribution of carrier. This finding can explain the role of carrier size in de-agglomeration of drug particles in the mixture. Furthermore, it gives more structural information of interactive mixture for inhalation that can be used in the investigation of aerosolisation mechanism of powder. According to the manufacturing history, different batches of FP show different agglomeration intensities which can be detected by Spraytec®, a new laser diffraction method for measuring aerodynamic size. After mixing with a carrier, Lactohale LH200, the most cohesive batch of FP generates a lower fine particle fraction. It can be explained by the fact that agglomerates of Fluticasone Propionate with very large size was detected in the mixtures. By using silica-gel beads as ball-milling agent during the mixing process, the FP agglomerate size decreases accordingly to the quantity of mixing aid. The homogeneity and the aerodynamic performance of the mixtures are improved. The mixing aid based on ball-milling effect could be used to ameliorate the quality of inhalation mixture of cohesive drug, such as Fluticasone Propionate. However there is a threshold where an optimal amount of mixing aids should be used. Not only the drug des-aggregation reaches its peak but the increase in drug-carrier adhesion due to high energy input should balance the de-agglomeration capacity of mixing process. This approach provides a potential alternative in DPI formulation processing.

Keywords: Permeability, DPI performance, Fluticasone, Agglomerates, powder aerosolisation.

Introduction

In inhalation therapy, the typical size of respirable particles is generally below 5 micrometers. Within this range of size, they are able to penetrate into the lower lungs, i.e. the bronchiolar and alveolar sites. Although micronization of the active drug is essential for deposition into the lower lungs during inhalation, due to their small size and high relative surface area, drug particles are very cohesive and naturally form agglomerates (1) that could prevent dispersion in the desired respirable size (2-4). The agglomerated particles cannot reach the bronchiolar and alveolar sites of the lungs. Aggregate size and behaviour appeared to play an important role in powder aerosol dispersion (5,6). Thus, de-agglomeration properties of drug-alone formulations had drawn a great attention of academic and industrial researchers.

Aerodynamic dispersion of cohesive powder is actually an active research field but more fundamental studies are needed to give better understanding on the de-agglomeration process upon interaction with air flow (7). A new model describing the complete disintegration of dry powder agglomerates was recently proposed. In this model, the breakup of every single connection inside agglomerate is considered and the dispersion strength of model agglomerates is calculated and discussed. Depending on the intensity of applied dispersion stress, an instant de-agglomeration or a step-wise de-agglomeration of powder is possible. A linear relationship between the dispersion strength and $\chi_{\text{Agg}}/\chi_{\text{p}}$ (diameter of agglomerate/diameter of primary particle) was demonstrated (1,8). In reality, the cohesion between primary particles is not homogenous distributed in agglomerates. In that case agglomerates are first divided along areas of less cohesion into parts, so that smaller and relatively stable agglomerates remain at the end (8). The similar observations were experienced with micronized budesonide and salbutamol sulphate as models, using Aerosizer® with various shear force (9).

From a practical point of view, strong cohesion forces between particles hinder the handling of the powder during the manufacturing process, especially in metering and filling steps (10,11). Thus, formulations with fine drug particles and coarse carrier

particles, usually α -lactose monohydrate have been commonly used to facilitate aerodynamic dispersion and flow (11,12). In this type of mixture, so-called ordered mixture or interactive mixture, the fine particles of drug adhere to the larger carrier particles in such a way that it results in good blend uniformity and flowability.(11) However, the adhesion should be adequate to effectively release the drug particles in respirable size range during inhalation, thus allowing them to reach the target sites into the lungs. Many commercial products have relatively poor efficiencies, with often less than 30% of drug being delivered to the lungs (13).

Interactions between particles are mainly dependent on the physicochemical characteristics of the interacting particles that will influence the drug/carrier blend process and also drug delivery from the carrier and its dispersion. The research on drug-carrier interaction and its relationship with aerodynamic performance of carrier-based formulation was extensively investigated. Different important factors were identified, such as particle size, shape (14), particle size distribution (15,16), roughness (2,17,18), surface energy (19), fine lactose content (16,19,20)... In these studies, the phenomenon drug-carrier adhesion was mainly examined.

In the interactive mixtures, if sufficiently high amount of drug is added; all drug particles cannot adhere to carrier and will form agglomerates (21). The agglomeration phenomenon was also observed in the mixture of micronized drug and coarser particle. The kinetic of de-agglomeration was described, in function of carrier size and mixing conditions (22,23). The excellent agreement between dissolution profiles and drug agglomerate size was reported. (22,24).

The role of carrier is to facilitate the de-agglomeration of cohesive drug particles that aids the powder flow, entrainment and aerosolisation. However, there is little research on the drug agglomeration phenomenon in carrier-based DPI formulations, linking with their aerodynamic performance. The aim of this work was to study the agglomeration behaviour of micronized fluticasone propionate within interactive mixture with alpha-lactose monohydrate for inhalation, especially the influence of carrier particle size and the mixing conditions.

2. Material and methods

2.1 Materials:

Intrinsic fine particles of lactose were removed from Lactohale LH200 (Friesland Foods Domo, The Netherlands) by air-jet sieving through a 32 µm sieve for 30 minutes with an airflow that produces a pressure drop of 4 kPa. This lactose without small particles was further sieved through 40, 63, 90, and 125 µm sieves to obtain 3 fractions: 40-63 µm; 63-90 µm and 90-125 µm. The obtained fractions were stored at 40% RH, 20°C at least 24h before further operations. Two batches of micronized fluticasone propionate (FP) (batch number 0712/019/410 and 92275 respectively) were used as supplied from two manufacturers.

For the Karl-Fischer titration, Hydranal®-Composite 5 (Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, Germany), containing imidazoles, sulphur dioxide and iodine in diethylene glycol monoethyl ether was used. It has a titer of 5 mg water/mL. Chemicals and solvents used were ammonium acetate (AnalaR Normapur, VWR International, Belgium) methanol (HPLC Grade, Fischer Scientific UK Ltd, United Kingdom). For HPLC analysis, water was purified by reverse osmosis (MiliQ; Milipore, Molsheim, France).

2.2 Powder characterisation

Particle size was measured by laser diffraction (Malvern Mastersizer 2000®, Malvern Instrument Ltd, Orsay, France) in liquid dispersion using the 300 RF lens and the small volume sample presentation unit.

For lactose, the dispersing medium was 0.5% Polysorbate 80 (Tween 80) in absolute ethanol saturated by lactose over 24 h and filtered through 0.25 µm prior to analysis. Lactose was dispersed in the dispersing medium for 3 min by magnetic agitation. The sample was further treated with sonication in a water bath for 1 min. Sample was added into sample cell containing the dispersing medium in order to obtain an obscuration between 10 -30%. In case of fluticasone propionate, the dispersing medium was ethanol/water 10/90 (% v/v) with 0.1% Polysorbate 80, saturated by fluticasone propionate. Size measurement of each sample was performed using 2000 sweeps. Size distribution and summary statistics are the average of at least three determinations. For each measurement, the mean diameter (VMD = Volume mean Diameter), the median

diameter ($d_{v,0.5}$), the diameter under which 10% particles ($d_{v,0.1}$) and 90% particles ($d_{v,0.1}$) were in consideration.

The true density of powder was assessed by helium pycnometer (AccuPyc 1330, Micromeritics, USA) using a 3 cm³ sample cell. The results are expressed as the average of ten determinations.

Water content of lactose was analysed by Karl-Fisher technique, using Metler DL18 Karl-Fischer titrator, a coulometric titration machine. Prior to analysis, the titrant concentration of Hydranal®-Composite 5 was determined using purified water as calibration sample. The background titrant consumption, usually caused by moisture absorption in the titration system, was also evaluated. The background titrant consumption value must be lower than 50 µg/min and was taken in account in the result calculation. 1 gram of lactose was weighed and dispersed in dry methanol (previously titrated out water). The results are calculated as the average of three determinations.

Apparent bulk volume (V_0) and volumes after 10 taps (V_{10}) and 500 taps (V_{500}) for 50 g powder were determined using the method described in the European Pharmacopoeia 2008. The bulk volume was measured after tapping the cylinder ten times on a flat table top surface (V_0). The graduated cylinder is placed on a tap density tester and the final volume is recorded after 500 taps. The packing ability $V_{10} - V_{500}$ was also calculated.

The angle of repose is the angle formed by the horizontal base of the bench surface and the edge of a cone-like pile of granules. Funnel used was a glass funnel and the size of the orifice was 8 mm and the height from the beginning of funnel to end of orifice was 11 mm. The funnel was fixed in place, 6 cm above the bench surface. After the cone from 25 g of sample was built, height of the granules forming the cone (h) and the diameter (d) of the base were measured. The angle of repose (θ) was calculated as follows:

$$\theta = \tan^{-1}\left(\frac{2h}{d}\right)$$

The air permeability of powder was measured by means of a Blaine apparatus. A modified procedure for investigating the structure of powder was developed. A critical point of this procedure is that no force is exerted on the powder bed in order to maintain the un-modified powder structure. The operational procedure was described in previous study (25). Three samples are analysed. The results are calculated as the mean of the 24 measurements.

Powder characterisation by mercury porosimetry

Powder permeability was assessed by mercury intrusion porosimetry (Micromeritics® Autopore IV 9500). 1 (± 0.02) g of powder sample was used. Mercury pressure working range was from 0.0034 MPa to 15 MPa in order to avoid particle compression or collapse due to high pressure. With range of working mercury intrusion pressure, this technique was utilized to investigate the structure of pore of powder bed, as mentioned in our previous work (25).

2.3 Mixing conditions and Homogeneity Evaluation

Fluticasone propionate (FP) at a concentration of 2.5% w/w and lactose were mixed in a Turbula mixer (Bachofen Maschinenfabrik, Basel, Switzerland) for 2 hours at 90 rpm. Each blend was prepared in 50 g quantities in glass vessels adapted for Turbula mixer. The mixing was performed at controlled ambient conditions (40 ± 5 % relative humidity and 20 ± 2 °C).

The quality of the blends was expressed by the coefficient of variation (cv) of sample drug content. Fifteen randomly selected samples (20.0 ± 0.2 mg) were dissolved in methanol/water 70/30 (% v/v) using 25 mL volumetric flasks. Sonication in a water bath ensured the total dissolution of drug. All fluticasone propionate samples were analysed by a validated HPLC method using an ODS chromatographic column, 50 x 4.6 mm x mm. 5 μ m (Phenomenex). Mobile phase is composed of methanol/0.1% ammonium acetate buffer in 80/20 (% v/v) ratio, and was passed through a filter of 0.22 μ m prior to use. The flow rate was 1 mL/min and fluticasone propionate was detected at 236 nm. A linear range was obtained from 0.01 to 23.0 μ g/ml ($r^2=0.996$).

2.4 Evaluation of adhesion

Adhesion characteristics were evaluated by submitting the blend to a sieving action by air depression with the Alpine air-jet sieve. 30 g of blend was placed on the 32 μ m sieve section of the Alpine air-jet apparatus, in a sealed enclosure. Three samples of 20 mg were removed from the powder bed after sieving for different lengths of time: 5, 30, 60, 150 and 300 seconds. The quantity of drug remaining in on the sieve was determined by HPLC method.

2.5 Mixture Investigation by Optical Microscopy

Powder mixtures were gently scattered onto the glass slides and one drop of light paraffin oil was applied without disturbing the powder structure. Samples were observed using a Nikon optical microscope equipped with digital image capture system.

2.6 Determination of particle size distribution of Fluticasone propionate in mixture with lactose

The particle size of fluticasone propionate in mixture was assessed by laser size analyser. About 30 mg of mixture was suspended in ethanol/water (10:90; v/v). The lactose particles dissolved while the fluticasone propionate particles were suspended in the solution. The particle size distributions of suspensions were measured. The results are the mean of at least three determinations.

2.7 Aerodynamic evaluation

Each formulation was manually loaded into size 3 gelatine capsules (donated by Capsugel, France). Fill weight was 20.0 ± 0.2 mg for fluticasone propionate mixtures giving the nominal dose of 500 ± 5 μ g drug per capsule. Following filling, capsules were stored at 40 ± 5 % relative humidity and 20 ± 2 oC for at least 24 hours prior to analysis. Aerodynamic evaluation of fine particle fraction and emitted dose were obtained using a Twin Stage Impinger (TSI, Apparatus A, European Pharmacopoeia, 2008). Each deposition experiment involved the aerosolization at 60 l/min via an Inhalator Ingelheim of 5 capsules. All stages of the Twin Stage Impinger were filled with Water/Methanol 30/70 % v/v. The quantity of drug was determined by the methods previously described in mixture quality evaluation. For each blend, the assays were performed in triplicate. All experiments were performed in controlled temperature and relative humidity (40 ± 5 % relative humidity and $20 \pm 2^\circ$ C).

- Emitted dose (ED) was the sum of drug collected from the upper and lower stages
- Fine particle dose (FPD) is defined as the amount of drug deposited in the lower stages of the TSI, since their aerodynamic diameter was less than the cut-off diameter of the TSI (6.4μ m at an airflow rate of 60 l/min),
- The percentage emission was calculated as the ratio of ED to the average capsule content
- The fine particle fraction was calculated as the ratio of FPD to the emitted dose.

Results and discussion

Powder characterisation

Figure 1. Image of fraction of Lactose (magnification x 20)

(A) Lactohale LH200 63-40 μm



(B) fraction 63-40 μm - FP 25.5%



(C) Lactohale LH200 90-63 μm



(D) Lactohale LH200 90-63 μm - FP 2.5 %



(E) Lactohale LH200 125-90 μm



(F) Lactohale LH200 125-90 μm - FP 2.5%



In the laser diffraction method for particle size distribution determination, the saturation of the dispersing medium with sample prevents the possible dissolution during the measurements. Sonication is believed to aid the complete agglomerate separation into primary particles. Sample observation by optical microscope (40 and 100 times magnification) demonstrated the complete dispersion of fine particles and no particle fragmentation was detected. Investigation by optical microscope revealed that air depression sieving removed successfully the fine lactose particles (Figure 1. A, C, E). For all tested lactoses, the water content is about 5%, which is in agreement with the lactose alpha-monohydrate specifications of the European Pharmacopoeia. True density determined by helium pycnometer is from 1.5410 to 1.5495 g/cm³, comparable with other published values. The mass median diameter of fluticasone propionate is about 3.23 µm and 2.80 µm. It is adequate for deep penetration into the lungs. Table 1 gives an overview of particle characterisation of drugs and carriers.

	Batch	VMD (µm) ^(a)	dv,0.1 (µm) ^(a)	dv,0.5 (µm) ^(a)	dv,0.9 (µm) ^(a)	Water Content (%) ^(b)	True density (g/cm ³) ^(c)
Lactohale LH200	629707	61.14 (± 2.17)	4.74 (± 0.15)	54.33 (± 2.57)	127.82 (± 3.29)	5.14 (± 0.0)	1.5400 (± 0.0016)
Lactohale LH200 > 32	629707	91.14 (± 1.09)	41.07 (± 1.22)	89.39 (± 0.91)	147.19 (± 1.60)	5.10 (± 0.04)	1.5370 (± 0.0013)
Fraction 125-90	629707	109.60 (± 2.89)	52.17 (± 7.86)	112.56 (± 3.18)	163.31 (± 3.22)	5.13 (± 0.03)	1.5495 (± 0.0039)
Fraction 90-63	629707	90.17 (± 2.49)	39.47 (± 5.05)	90.83 (± 1.52)	140.33 (± 4.01)	5.20 (± 0.02)	1.5439 (± 0.0018)
Fraction 63-40	629707	67.19 (± 0.14)	33.82 (± 1.82)	65.98 (± 0.31)	105.34 (± 2.11)	5.12 (± 0.09)	1.5410 (± 0.0078)
Fluticasone Propionate	0712/01 9/410	3.23 (± 0.04)	0.51 (± 0.01)	2.69 (± 0.03)	6.69 (± 0.10)	ND	1.3803 (± 0.0038)
Fluticasone Propionate	92275	2.80 (± 0.08)	0.46 (± 0.00)	2.07 (± 0.01)	5.79 (± 0.12)	ND	1.3997 (± 0.0086)

Table 1. Powder characteristics ^(a) value ± Standard deviation, n = 6; ^(b) value ± Standard deviation, n = 3; ^(c) value ± Standard deviation, n = 10; VMD = Volume Mean Diameter

All lactose fractions that are exempted from fine particles ($< 32 \mu\text{m}$) have a good flowability. Bulk volumes, volumes after 10 taps and packing ability are comparable for the two fractions $125\text{-}90 \mu\text{m}$ and $90\text{-}63 \mu\text{m}$, but are higher for the $63\text{-}40 \mu\text{m}$ fraction (Table 2). Although the void fraction in small size particle is more important, the arrangement between particles for small size powders is more difficult than bigger sized powders. This behaviour can explain a bad flowability of small size powder. The presence of particle smaller than $32 \mu\text{m}$ hinders the powder flow, in case of Lactohale LH200. A good agreement between the values of angle of repose, powder packing and flow time was demonstrated.

Lactose	Flow time (s)	V0 (mL)	V10 (mL)	V500 (mL)	V10-V500 (mL)	Angle of repose (°)
Lactohale LH 200	No flow	75.7 (± 1.5)	71.0 (± 1.0)	55.7 (± 0.6)	15.30	52.1 (± 2.4)
Lactohale LH 200 > 32 μm	2.5 (± 0.12)	69.0 (± 1.0)	64.0 (± 0.0)	58.0 (± 0.0)	6.00	31.3 (± 1.2)
Fraction 125-90 of Lactohale LH200	1.83 (± 0.06)	69.7 (± 0.6)	65.7 (± 0.6)	61.3 (± 0.6)	4.40	28.9 (± 1.0)
Fraction 90-63 of Lactohale LH200	2.00 (± 0.36)	70.0 (± 0.0)	64.7 (± 0.6)	59.3(± 0.6)	5.40	32.8 (± 1.3)
Fraction 63-40 of Lactohale LH200	5.17 (± 1.04)	75.0 (± 1.0)	70.7 (± 0.6)	63.3 (± 0.6)	7.40	36.1 (± 0.7)

Table 2. Powder Flow Characterisation (value \pm Standard deviation, n = 3)

Powder structure determined by mercury porosimetry and Blaine apparatus

The pore structure is an important property of porous materials, especially in granular material like powder bed. It can be assessed by investigation of powder bed permeability and by non-wetting liquid intrusion like mercury porosimetry. In case of permeability, the air flow time reveals the air pathway system through a powder bed. It's more difficult for air to travel through a smaller and longer pathway. In the other

hand, the mercury porosimetry gives more details of the pore structure thanks its gradual intrusion. When the intrusion pressure increases, the mercury liquid fill sequentially the largest to smallest pores, from voids formed by inter-particulate spaces to surface pores depending the intrusion pressure. At the critical pore size, defined as characteristic length, a continuous pathway through the material and a point of inflection in the rapidly increasing range of the cumulative intrusion curve can be observed. This inflection point corresponds closely to the pressure at which percolation begins (P_t). The value of characteristic length is then calculated from the Washburn equation for P_t .

	Pore diameter of the carrier bed (μm)	Permeability (Darcy)	Permeability by Blaine Apparatus (s)	1/t (1/s)
Lactohale LH 200	17.58	440.02	4.73 (+/-)	0.21
Lactohale 200 >32 μm	24.55	1096.58	2.12 (+/-)	0.47
Fraction 125-90 μm of Lactohale LH200	33.62	2290.44	1.25 (+/-0.07)	0.80
Fraction 90-63 μm of Lactohale LH200	26.07	1415.91	1.74 (+/-0.08)	0.57
Fraction 63-40 μm of Lactohale LH200	21.36	864.71	2.23 (+/-0.09)	0.45

Table 3. Powder Pore Structure characterisation

The results of air permeability and powder pore structure by mercury porosimetry were shown in the Table 3. There is a good linear correlation between the permeability (Darcy) measured by mercury porosimeter and the reciprocal of airflow time through a powder bed, determined by Blaine apparatus ($R^2 = 0.9629$). Thus, the air permeability can be also useful for powder pore structure assessment. The pore size of powder bed depends on the particulate size. As comparing the characteristic length, that is to say the pore diameter of the carrier bed (table 3) with particle size (table 1), a smaller particle size contributes to a powder bed with smaller pore structure.

Mixture characteristics

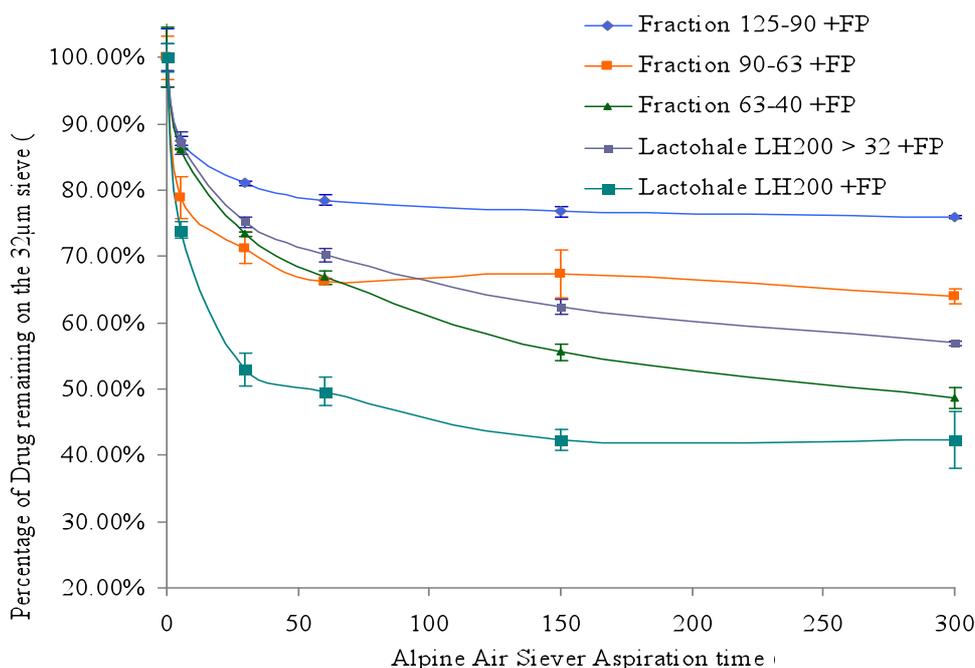
All blends are acceptably homogenous with coefficient of variation less than 5%. The recovered drug contents are close to the theoretical values 2.5% nominal dose. Homogeneous blends were obtained for blends (Table 4).

Blend	FP Content (%)	CV (%)
Lactohale LH 200 + FP	2.47%	2.17%
Lactohale 200 >32 μm + FP	2.42%	2.06%
Fraction 125-90 μm + FP	2.28%	4.41%
Fraction 90-63 μm + FP	2.31%	3.31%
Fraction 63-40 μm + FP	2.46%	4.44%

Table 4. Fluticasone Propionate (Batch Number 0712/019/410) mixture characteristics (n=15)

When blends are submitted to the Alpine air-jet siever with a 32 μm sieve, drug is rapidly carried away by the airflow. The quantity of drug remaining after 30 seconds is an indicator of the quantity that could adhere to the carrier (17) or the quantity of drug agglomerates whose size is bigger than 32 μm . It was observed that the bigger the carrier particle size is, the greater the fraction of drug that remains attached to the carrier (Figure 2). This is confirmed by the assays carried out using the TSI (Table 5). The fine particle fraction (FPF) of fluticasone increased when the particle size of the different sieved fractions of lactose decreases. A further decrease of the lactose fraction (40-63 μm) improves the FPF but it remains much lower than the one obtained with the Lactohale LH200 used as received. In case of initial lactose, the fine particles of lactose (smaller than 32 μm), in one hand could adhere to so-called “high energy sites” of coarse particles as “active sites theory” (26) or, in the other hand could form loose agglomerates with drug particles that could be easily aerosolised in respirable size range (20).

Figure 2. Percentage of FP remaining in the blend in relation to the functioning time of the air-jet siever



The particle size is one of critical characteristic of carrier in dry powder inhaler formulation. This factor could affect the fluidisation process and the adhesion of drug particles on carrier surface. Bell et al, 1971 found that particle diameter of lactose capable of effecting maximum powder removal from a Spinhaler capsule is approximately 100 μm (12). The dispersion of drug particles appeared to increase as the particle size of the lactose carrier decreased for the mixtures prepared from different particle size commercial samples of lactose and from different sieve fractions of the same lactose, due to the decrease of interaction force of type van der Waals (21,27).

Blend	Air flow time (s)*	Emitted dose (%)*	Fine particle Fraction (%)**
Lactohale LH 200 + FP	9.37 (\pm 0.48)	79.17 (\pm 1.61)	25.25 (\pm 3.70)
Lactohale 200 >32 μm + FP	3.28 (\pm 0.10)	79.36 (\pm 2.01)	9.41 (\pm 2.78)
Fraction 125-90 μm + FP	1.99 (\pm 0.19)	79.17 (\pm 1.61)	4.29 (\pm 0.28)
Fraction 90-63 μm + FP	2.67 (\pm 0.21)	72.17 (\pm 1.33)	7.67 (\pm 0.70)
Fraction 63-40 μm + FP	3.56 (\pm 0.09)	75.54 (\pm 1.93)	9.46 (\pm 1.07)

Table 5. Aerodynamic performance of Fluticasone Propionate (Batch Number 0712/019/410) mixtures by TSI (*) n =3; (**) n =8

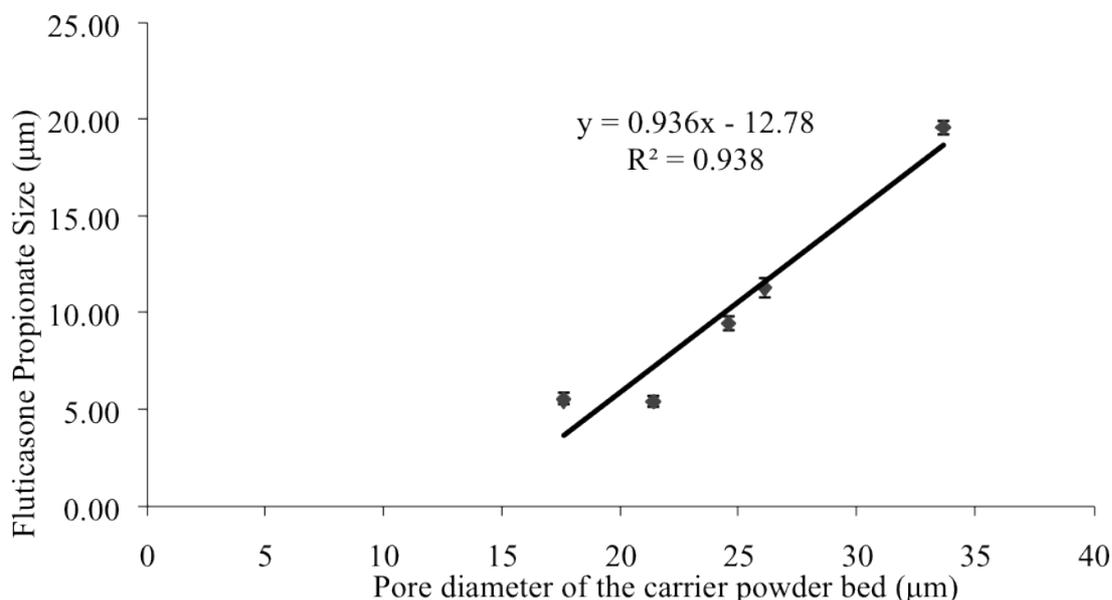
After mixing the lactose with the drug, a reduction in air permeability of each mixture was observed (permeability of carriers in Table 3 and permeability of mixture in Table 5). It can be explained by the fact that beside the adhesion on carrier particles, drug particles could distribute in the interstitial space between carrier particles and therefore it is more difficult for the air to move through the powder bed. Non-adhering drug particles can be seen on the microscopic image taken from mixture with lactose fraction exempted the particle smaller than 32 μm (Figure 1. B, D, F).

Blend	VMD (μm)	dv,0.1 (μm)	dv,0.5 (μm)	dv,0.9 (μm)
Lactohale LH 200 + FP	5.59 (+/-0.30)	0.36 (+/-0.02)	5.65 (+/-0.10)	10.69 (+/-0.75)
Lactohale 200 >32 μm + FP	9.47 (+/-0.35)	0.62 (+/-0.03)	7.26 (+/-0.09)	21.03 (+/-0.89)
Fraction 125-90 μm + FP	19.58 (+/-0.50)	3.29 (+/-0.09)	16.99 (+/-0.35)	39.43 (+/-1.26)
Fraction 90-63 μm + FP	11.30 (+/-0.28)	1.12 (+/-0.05)	8.95 (+/-0.17)	24.42 (+/-0.65)
Fraction 63-40 μm + FP	5.43 (+/-0.36)	0.59 (+/-0.03)	4.88 (+/-0.05)	10.39 (+/-0.65)

Table 6. Fluticasone Propionate size in the Mixtures with lactose (+/- standard deviation, n = 6) (FP batch 92275)

For further investigation of FP agglomerate in mixture, the FP size was then measured. By dissolving lactose in the measurement liquid, the size of agglomerates of fluticasone can be assessed by laser size analyser. It can be noted that even after mixing with lactose for 120 minutes, drug particles still remain in agglomerate form (Table 6). Agglomerate sizes were found in good correlation with the pore size between carrier particles ($R^2=0.9382$) (Figure 3). It can be speculated that during mixing, the natural agglomerates of drug should be dispersed and divided to small agglomerates according to the interstitial space size between the bigger particles of carrier. This finding is supported by percolation theory in binary mixture (28,29).

Figure 3. Relationship between interparticulate pore size of carrier powder bed and Fluticasone Propionate Size in the Mixture.



Investigation of Mixing conditions on Agglomeration behaviour of Fluticasone Propionate in the mixture

To reach the inhalable size range (inferior than 10 µm), drugs are normally submitted to micronisation (30). The thermodynamically activated particle surfaces due to high energetic process can cause high agglomeration behaviour (31). Furthermore, it is difficult to control this process and the batch-to-batch difference is a common phenomenon (32-34). In this study, two different batches (0712/019/410 and 92275) of fluticasone propionate were disposed. The Spraytec® technique was chosen to differentiate the agglomerate intensity of the two batches. The principle of this technique was described in previous studies (35,36). Experiments were conducted using capsule size 3 containing about 10 mg of fluticasone propionate via Handihaler® of Boehringer Ingelheim. The flow rate through the Spraytec® was maintained at 90 L/min. All measurements were made on three replicates. Measurement was performed over 2.4 s with an arbitrary triggering level of 50, noise level 0 and background level of 100. The particle size distribution of Fluticasone Propionate obtained by Spraytec® was represented in the table 7. The agglomerate behaviour of two batches of FP is quietly distinguished. Although their primary particle sizes are similar (VMD = 3.23 µm for Batch N° 0712/019/410 vs VMD = 2.80 µm for Batch N° 92275), their agglomerate sizes

are very different in aerosolised state. Fluticasone Propionate batch N° 92275 shows a most cohesive property and forms biggest aggregates (55.37 μm , approximately 20 times of primary particles).

Batch	VMD (μm)	dv,0.1 (μm)	dv,0.5 (μm)	dv,0.9 (μm)	V< 5.0 μm (%)
0712/019/410	24.22 (\pm 2.66)	2.29 (\pm 0.19)	9,88 (\pm 1.11)	73.99 (\pm 11.59)	28.80 (\pm 3.49)
92275	55.37 (\pm 2.40)	3.08 (\pm 0.19)	40.15 (\pm 6.02)	130.70 (\pm 1.22)	20.01 (\pm 1.43)

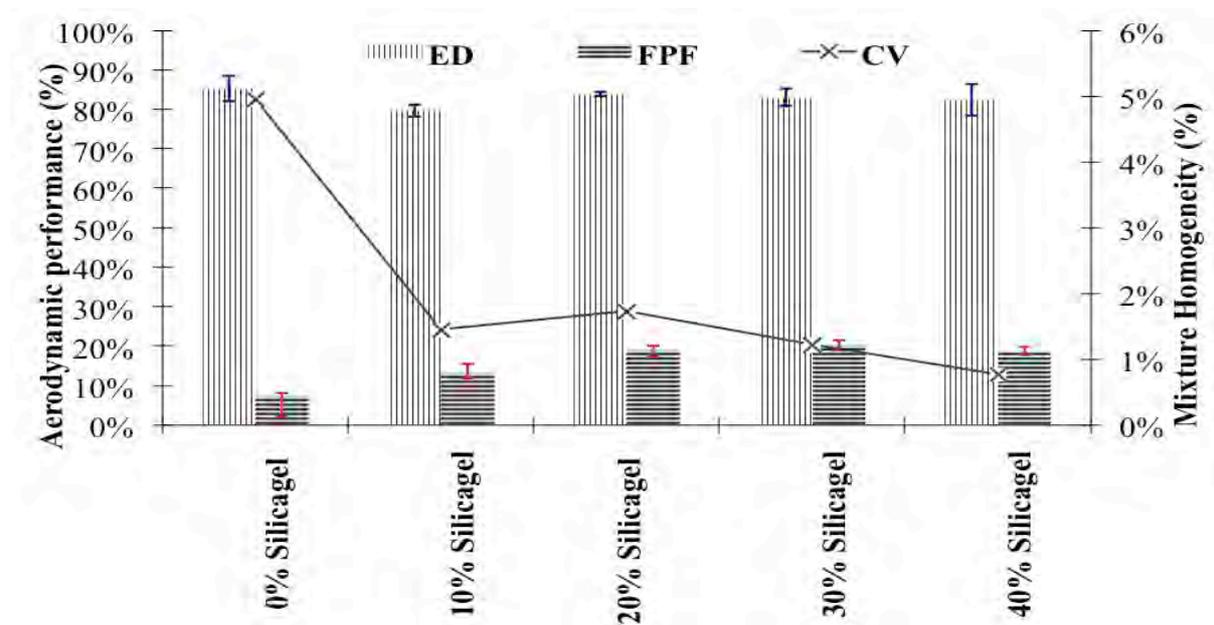
Table 7. Aerodynamic size of 2 batches of Fluticasone Propionate determined by Spraytec® (\pm standard deviation, n =3)

In order to investigate the influence of mixing conditions on agglomeration of Fluticasone Propionate in mixture, especially for a very cohesive powder, Fluticasone Propionate (FP) (batch 92275, Volume Mean Diameter = 2.80 μm) at a concentration of 2.5% w/w was mixed with Lactohale LH200. The mixing process was carried out in a Turbula mixer for 2 hours at 90 rpm under controlled relative humidity and temperature. Each blend was prepared in 5 grams quantity. The characteristics of 5g mixture are similar with 50 g mixture ones (Data are not shown). Silica-gel beads (diameter approx. 3-5 mm, 25 beads for 1 gram readily equilibrated with experimented ambiance) were used as mixing aids based on ball-milling effect for de-agglomerating purpose. Five blends were prepared with 0%, 10%, 20%, 30% and 40% of these beads. The quality of the blends was expressed by the uniformity of drug content (n=20). Quantitative analysis was carried out by validated HPLC method, as mentioned above. The recovered drug content of all mixtures is close to the theoretical values (Table 8). FP content uniformity is lower than 5% that indicates a good homogeneity of all blends. 0% Silicagel mixture has a higher content coefficient variation than other mixtures (p <0.001). Thus, using silica-gel beads as mixing aid improves the homogeneity of FP mixture. At 40% silica-gel, the mixture shows the best uniformity.

Mixtures	Content	RSD
0% Silicagels Mixture	2.44%	4.96%(*)
10% Silicagel Mixture	2.42%	1.45%
20% Silicagel Mixture	2.46%	1.73%
30% Silicagel Mixture	2.45%	1.22%
40% Silicagel Mixture	2.40%	0.77% (*)

Table 8: Fluticasone Propionate (Batch 92275) mixture Characteristics, n = 20, (*) statistically different (Fischer test, $\alpha = 0.05$)

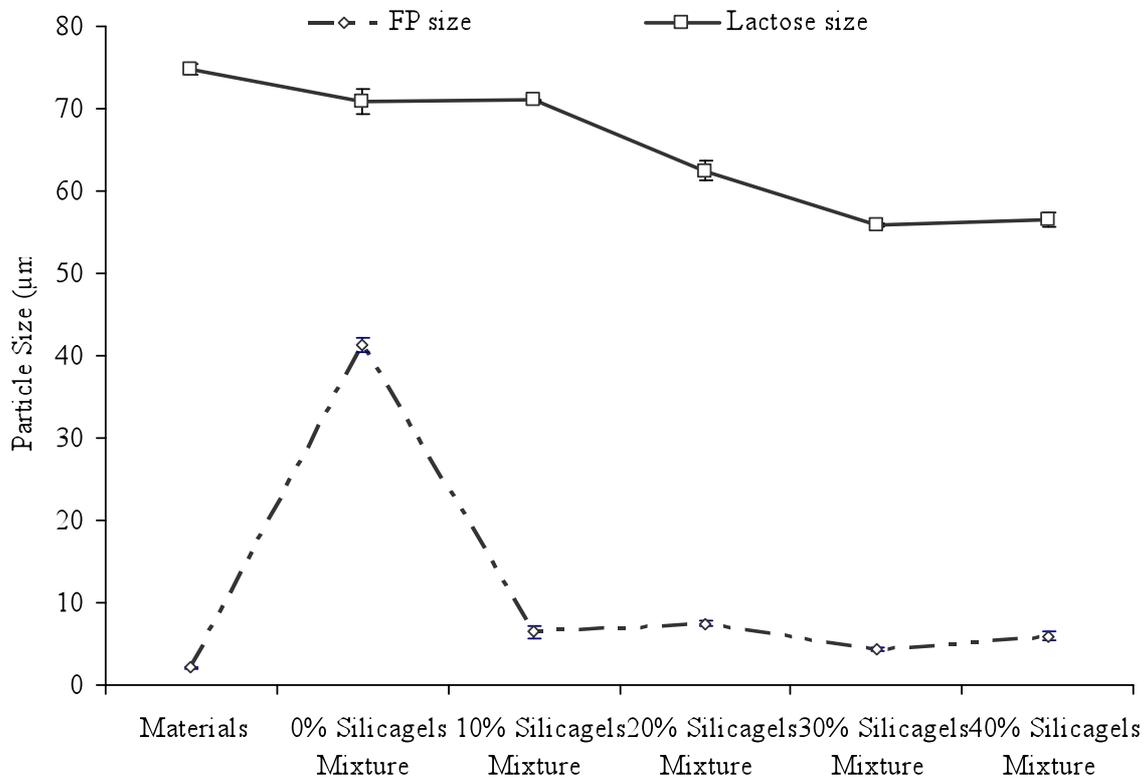
Figure 4. Aerodynamic Performance and Homogeneity of Fluticasone Propionate Mixtures



In terms of aerodynamic performance of powder mixture, the fine particle fraction (FPF) of mixtures with mixing aids is significantly greater than simple Turbula-processed mixture (e.g. 7.29%) as it can be seen in Figure 4. FPF improvement depends on the amount of added silica-gel beads. FPF reaches a peak when 30% of silica-gel beads was added and shows no significant improvement with increasing the amount of mixing aid.

The effect of amount of silica-gel beads on the size of drug and lactose particles was investigated and is presented in Figure 5. Without mixing aids, drug is not sufficiently dispersed. Biggest size FP agglomerates are found in this mixture. The FP agglomerate size decreases gradually when increasing the quantity of mixing aid. In one hand, the fine particle fraction of FP is consequently ameliorated. On the other hand, decreasing fluticasone propionate agglomerates improves the uniformity of drug in mixture.

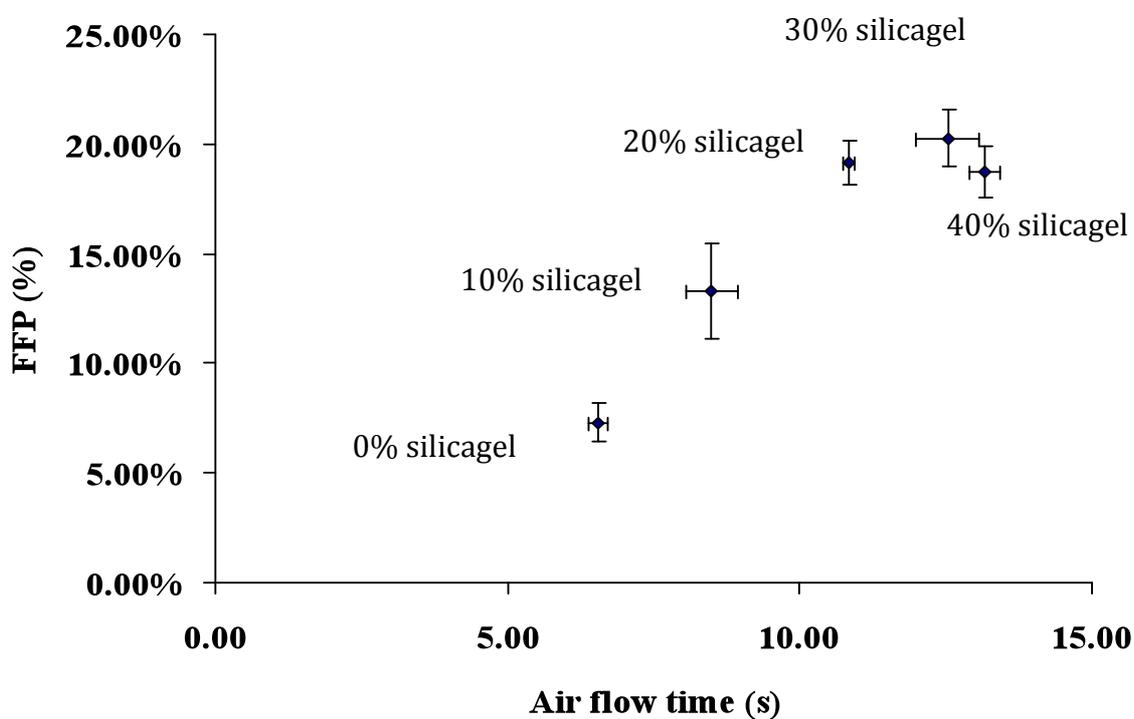
Figure 5. Volume Mean Diameter of Fluticasone Propionate (FP) and Lactose in the Mixtures.



There is a milling effect of the lactose when using silica-gel beads. Practically unchanged when 10% of Silica-gel beads are added, the lactose particle size decreases gradually to a minimum when 30% of mixing aids are added. The improvement in the aerodynamic performance of FP formulations is possibly caused by both reduction of FP agglomerates and lactose particle size in the mixture. This is confirmed by air permeability of powder. Investigation of bulk quality of formulations and air permeability through powder bed of mixture reveals the same tendency (Figure 6). Adding silica-gel beads in mixing process

increased the air resistance of mixture but the optimum is obtained when 30% of mixing aids is used. The smaller agglomerates can contribute to the narrowing the air pathway of the powder bed. Therefore, an increasing airflow time through mixture was reported. However, the high-energy input caused by high quantity of silica-gel beads can lead to higher adhesion of drug particles onto the coarser carrier particles. The air permeability was thus increased.

Figure 6. Relationship between air permeability of powder and fine particle fraction.



Conclusion

Carrier particle size plays an important role in the inhalation performance of interactive powder mixtures. Decreasing carrier particle size leads to a decrease of particulate interaction between drug and carrier. The reduced adhesion between drug and carrier particles increased drug detachment. In this study, drug agglomeration in mixture was investigated. Beside adhesion on the carrier particles, drug particles could distribute in the interstitial spaces of carrier in agglomerate form. The agglomerate size is a function of pore size formed between the carrier particles. Mixing process is a critical operation in the manufacturing of DPI formulations. Whereas simple low-shear tumbling mixer (Turbula) allows achieving acceptable homogeneity, agglomerates of very cohesive drug, such as Fluticasone propionate, remain in the final mixture. Mixing aid using ball-milling effect improves the mixture homogeneity and the aerodynamic performance thanks to its de-agglomeration efficiency. Furthermore, the quantity of fine lactose particles is also increased due to the milling effect. However there is a threshold where an optimal amount of mixing aids should be used. Not only the drug des-aggregation reaches its peak but the increase in drug-carrier adhesion due to high energy input should balance the de-agglomeration capacity of mixing process. This approach provides a potential alternative in DPI formulation processing.

Acknowledgements

The authors wish to thank Professor Karim Amighi, Free University of Brussels, for very kind permission to use the Spraytec® techniques, Mr Christophe Duret, PhD Student of Free University of Brussels for helping in measurement and interpretation of Spraytec® results. Mr P. Madau of Free University of Brussels was gratefully thanked for the Mercury Porosimetry measurements.

References

1. Kendall K, Stainton C. Adhesion and aggregation of fine particles. *Powder Technology*. 2001 nov 26;121(2-3):223-229.
2. Staniforth JN. *The Science of Formulation of Powders for Inhalation*. Tokyo, Japan: Capsugel Library; 1996. p. 23-32.
3. Timsina MP, Martin GP, Marriott C, Ganderton D. Drug delivery to the respiratory tract using dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*. 1994;101:1-13.
4. Zeng XM, Pandhal KH, Martin GP. The influence of lactose carrier on the content homogeneity and dispersibility of beclomethasone dipropionate from dry powder aerosols. *International Journal of Pharmaceutics*. 2000 mars 20;197(1-2):41-52.
5. Louey MD. Aerosol Dispersion of Respirable Particles in Narrow Size Distributions Produced by Jet-Milling and Spray-Drying Techniques. *Pharm Res*. 2004 juill;21(7):1200-1206.
6. Louey MD, Van Oort M, Hickey AJ. Aerosol Dispersion of Respirable Particles in Narrow Size Distributions Using Drug-Alone and Lactose-Blend Formulations. *Pharm Res*. 2004 juill;21(7):1207-1213.
7. Calvert G, Ghadiri M, Tweedie R. Aerodynamic dispersion of cohesive powders: A review of understanding and technology. *Advanced Powder Technology*. 2009 janv;20(1):4-16.
8. Weiler C, Wolkenhauer M, Trunk M, Langguth P. New model describing the total dispersion of dry powder agglomerates. *Powder Technology*. 2010 nov 10;203(2):248-253.
9. Begat P, Morton DAV, Staniforth JN, Price R. The Cohesive-Adhesive Balances in Dry Powder Inhaler Formulations II: Influence on Fine Particle Delivery Characteristics. *Pharm Res*. 2004 oct;21(10):1826-1833.
10. Zhu J. Fluidization of Fine Powders. Dans: *Granular Materials. Fundamentals and Applications*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2004. p. 270-295.
11. Kassem NM, Ganderton D. Dry Powder Inhalers. Dans: *Advances in Pharmaceutical Sciences*. London: Academic Press; 1992. p. 165-191.
12. Bell JH, Hartley PS, Cox JS. Dry powder aerosols. I. A new powder inhalation device. *J Pharm Sci*. 1971 oct;60(10):1559-1564.
13. Steckel H, Müller BW. In vitro evaluation of dry powder inhalers I: drug deposition of commonly used devices. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997 août 12;154(1):19-29.
14. Hassan MS, Lau R. Inhalation performance of pollen-shape carrier in dry powder formulation with different drug mixing ratios: Comparison with lactose carrier. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010 févr 15;386(1-2):6-14.

15. Guenette E, Barrett A, Kraus D, Brody R, Harding L, Magee G. Understanding the effect of lactose particle size on the properties of DPI formulations using experimental design. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009 oct 1;380(1-2):80-88.
16. Handoko A, Ian L, Peter SJ. Influence of the polydispersity of the added fine lactose on the dispersion of salmeterol xinafoate from mixtures for inhalation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2009 févr 15;36(2-3):265-274.
17. Flament M-P, Leterme P, Gayot A. The influence of carrier roughness on adhesion, content uniformity and the in vitro deposition of terbutaline sulphate from dry powder inhalers. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004 mai 4;275(1-2):201-209.
18. de Boer AH, Hagedoorn P, Gjaltema D, Goede J, Kussendrager KD, Frijlink HW. Air classifier technology (ACT) in dry powder inhalation Part 2. The effect of lactose carrier surface properties on the drug-to-carrier interaction in adhesive mixtures for inhalation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003 juill 24;260(2):201-216.
19. Tong HHY, Shekunov BY, York P, Chow AHL. Predicting the aerosol performance of dry powder inhalation formulations by interparticulate interaction analysis using inverse gas chromatography. *J Pharm Sci*. 2006 janv;95(1):228-233.
20. Adi H, Larson I, Chiou H, Young P, Traini D, Stewart P. Role of agglomeration in the dispersion of salmeterol xinafoate from mixtures for inhalation with differing drug to fine lactose ratios. *J Pharm Sci*. 2008 août;97(8):3140-3152.
21. Steckel H, Müller BW. In vitro evaluation of dry powder inhalers II: influence of carrier particle size and concentration on in vitro deposition. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997 août 12;154(1):31-37.
22. de Villiers MM. Description of the kinetics of the deagglomeration of drug particle agglomerates during powder mixing. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997 mai 12;151(1):1-6.
23. Cartilier LH, Moës AJ. Effect of Drug Agglomerates Upon the Kinetics of Mixing of Low Dosage Cohesive Powder Mixtures. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1989 janv;15(12):1911-1931.
24. de Villiers MM. Influence of agglomeration of cohesive particles on the dissolution behaviour of furosemide powder. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996 juin 14;136(1-2):175-179.
25. Le VNP, Robins E, Flament MP. Air permeability of powder: A potential tool for Dry Powder Inhaler formulation development. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010 nov;76(3):464-469.

26. Young PM, Edge S, Traini D, Jones MD, Price R, El-Sabawi D, et al. The influence of dose on the performance of dry powder inhalation systems. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005 mai 30;296(1-2):26-33.
27. Islam N, Stewart P, Larson I, Hartley P. Effect of carrier size on the dispersion of salmeterol xinafoate from interactive mixtures. *J. Pharm. Sci.* 2004 avr;93(4):1030-1038.
28. Venables HJ, Wells JI. Powder mixing. *Drug Dev Ind Pharm.* 2001 août;27(7):599-612.
29. Leuenberger H. The application of percolation theory in powder technology. *Advanced Powder Technology*. 1999;10(4):323-352.
30. Rasenack N, Müller BW. Micron-Size Drug Particles: Common and Novel Micronization Techniques. *Pharmaceutical Development & Technology*. 2004 janv;9(1):1-13.
31. Steckel H, Rasenack N, Villax P, Müller BW. In vitro characterization of jet-milled and in-situ-micronized fluticasone-17-propionate. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003 juin 4;258(1-2):65-75.
32. Feeley JC, York P, Sumby BS, Dicks H. Determination of surface properties and flow characteristics of salbutamol sulphate, before and after micronisation. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998 oct 15;172(1-2):89-96.
33. Joshi V, Dwivedi S, Ward GH. Increase in the specific surface area of budesonide during storage postmicronization. *Pharm. Res.* 2002 janv;19(1):7-12.
34. Midoux N, Hosek P, Pailleres L, Authelin JR. Micronization of pharmaceutical substances in a spiral jet mill. *Powder Technology*. 1999 sept 1;104(2):113-120.
35. Adi H, Larson I, Chiou H, Young P, Traini D, Stewart P. Agglomerate Strength and Dispersion of Salmeterol Xinafoate from Powder Mixtures for Inhalation. *Pharm Res.* 2006 sept;23(11):2556-2565.
36. Pilcer G, Vanderbist F, Amighi K. Correlations between cascade impactor analysis and laser diffraction techniques for the determination of the particle size of aerosolised powder formulations. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008 juin 24;358(1-2):75-81.

TRAVAUX COMPLÉMENTAIRES

Chapitre 6.

**ÉTUDE DES POLYMORPHES DE LACTOSE COMME
TRANSPORTEUR DANS LES FORMULATIONS DE
POUDRE POUR INHALATION**

I. INTRODUCTION :

L'alpha - lactose monohydrate est l'excipient le plus utilisé dans les formulations de poudre pour inhalation notamment en raison d'une très faible toxicité respiratoire et d'une faible hygroscopicité ¹. Les autres polymorphes du lactose pourraient être utilisés comme alternatives car la nature chimique est similaire. Bien qu'il ait une excellente aptitude à la compression, l'alpha lactose anhydre stable a été retiré du marché car le temps de désintégration des comprimés augmente dans le temps ². Par ailleurs, le bêta lactose anhydre est largement utilisé pour les principes actifs sensibles à l'humidité grâce à sa faible teneur en eau. Enfin, le lactose amorphe, généralement produit par la méthode de nébulisation, est disponible pour la compression directe en vertu de sa bonne aptitude à la compression et à l'écoulement ³. Par contre, il y a peu de données sur l'utilisation de ces autres lactoses dans les poudres pour inhalation.

Dans les études précédentes, nous avons développé une technique de perméabilité pour tester des mélanges réalisés avec différents grades d'alpha lactose monohydrate. Une bonne corrélation linéaire entre la perméabilité du transporteur et du mélange est reportée ainsi qu'entre la perméabilité et la fraction de particules fines du principe actif ⁴. Cette nouvelle étude a pour but de caractériser 2 autres polymorphes du lactose, à savoir le β -lactose anhydre et le lactose amorphe, par les méthodes développées. Après mélange avec le principe actif, ils sont comparés à l' α -lactose monohydrate en ce qui concerne l'homogénéité de mélange et la performance aérodynamique.

II. MATÉRIAUX & MÉTHODES

1. Matériaux

Dans ces expériences, nous avons utilisé les grades de lactose commerciaux suivants (Tableau C.1.1)

L' α -lactose monohydrate et le β -lactose anhydre sont tamisés à travers le tamis de 125 μm puis les particules inférieures à 32 μm sont éliminées à l'aide d'un tamiseur à dépression d'air (Alpine) pendant 30 minutes. Les fractions granulométriques 32-125 μm de l' α -lactose monohydrate et du β -lactose anhydre ainsi obtenues sont laissées stabiliser à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ et $40 \pm 5\%$ d'humidité relative pendant 24 h avant toutes les opérations. La fraction de lactose amorphe supérieure à 32 μm est obtenue par aspiration au tamiseur à dépression d'air Alpine pendant 30 minutes. Elle est conservée

sous une cloche à 12% d'humidité relative et $20 \pm 2^\circ\text{C}$ (HR obtenue avec une solution saturée de chlorure de lithium).

Tableau C.1.1 Les grades de lactose utilisés et leur mode de fabrication.

Nature cristalline	α - lactose monohydrate	β - lactose anhydre	Lactose amorphe
Nom	Lactohale LH200	Supertab21AN	Supetab11SD
Fabricant	Friesland Foods-Domo	DMV-Fonterra	DMV-Fonterra
Lot	629707	10428173	10442405
Méthode de fabrication	Cristallisation broyage	et Cristallisation à haute température	Spray-drying

Le sulfate de terbutaline micronisé lot 10039-00 est utilisé comme principe actif modèle.

2. Méthodes

2.1 Caractérisation des transporteurs

Les différentes fractions granulométriques des polymorphes de lactose sont caractérisées par les méthodes suivantes :

- Détermination de **la distribution granulométrique** au granulomètre laser.
- Observation sous **microscope optique** pour visualiser la forme et les propriétés optiques des particules. Environ 200 mg de poudre sont dispersés dans 1 mL d'éthanol absolu contenant 0,5% de Tween 80 et préalablement saturé de lactose. Cette dispersion est passée à l'ultrason pendant 1 minute. Déposer cette dispersion sur une lame, la laisser sécher sous hotte et puis couvrir l'échantillon avec de l'huile de paraffine fluide. L'échantillon est ensuite examiné à différents grossissements. Les photos des particules qui sont bien séparées sont prises à une luminosité suffisante pour distinguer les formes et tailles des particules.
- Détermination de la **teneur en eau** par la méthode de Karl-Fischer (B.I.1.3).
- Mesure de **la masse volumique** grâce au pycnomètre à Hélium (B.I.1.2).

- Analyse des comportements thermiques par la **calorimétrie différentielle à balayage (DSC)** (B.I.1.4)
- Évaluation des propriétés rhéologiques par **l'aptitude au tassement et l'angle de repos** d'après les méthodes décrites dans la Pharmacopée Européenne.
- Perméabilité de poudre mesurée par la méthode développée dans les études précédentes. (B.I.1.9)

Toutes les méthodes sont détaillées dans la partie « Matériels et Méthodes ».

2.2 Mélange et Caractérisation des mélanges

Les fractions granulométriques des polymorphes sont ensuite mélangées avec le sulfate de terbutaline micronisé, au mélangeur TURBULA (Bachofen Maschinenfabrik, Basel, Switzerland) à 90 tours par minutes pendant 2h. Les mélanges sont à 1,46% de principe actif (1/67,5 m/m). La masse de mélange est de 50 g. Avant toutes les caractérisations ultérieures, les mélanges sont conservés à $40 \pm 5\%$ d'humidité relative et $20 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h pour se stabiliser.

En raison de la possibilité de ségrégation lors du test de tassement, seul l'angle de repos est déterminé pour caractériser les propriétés rhéologiques des mélanges. Les autres propriétés du mélange sont mesurées, à savoir :

- La perméabilité mesurée au perméabilimètre de Blaine selon la méthode développée.
- L'uniformité de teneur en principe actif évaluée par le dosage de 15 échantillons de poudre prélevés dans le mélange. La teneur moyenne et le coefficient de variation sont ensuite calculés pour estimer l'homogénéité.
- L'adhésion principe actif/transporteur évaluée par la méthode de tamisage à dépression d'air. La courbe de teneur en principe actif résiduel en fonction du temps de tamisage est ainsi obtenue.
- La performance aérodynamique via l'Inhalator de Boehringer déterminée par un impacteur à cascade en verre selon la méthode décrite dans la Pharmacopée Européenne. La dose émise et la fraction de particules fines sont ainsi calculées.

Le dosage du sulfate de terbutaline est fait par spectrophotométrie UV. Les échantillons sont dilués dans de l'eau osmosée. La densité optique des solutions à 277 nm est mesurée et reportée sur la courbe d'étalonnage du sulfate de terbutaline. La dilution est réalisée de façon à ce que toutes les densités optiques mesurées soient dans la zone de linéarité.

III. RÉSULTATS & DISCUSSION

1. Caractéristiques des transporteurs

Les résultats d'analyse granulométrique sont présentés dans le tableau C.1.2. Les images des particules sous microscope optique sont prises au grossissement 20. Elles sont présentées dans la figure C.1.1.

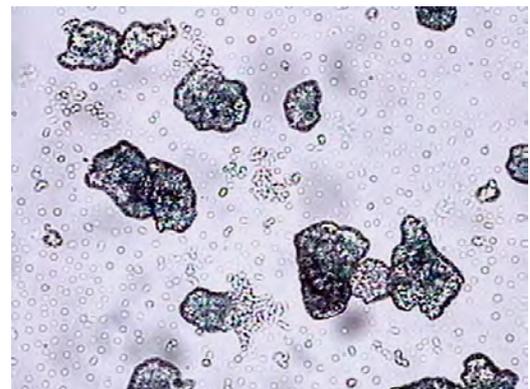
Tableau C.1.2 Analyse granulométrique des différentes fractions de lactose

Produit	VMD (μm)	SD	$d_{v,0.1}$	SD	$d_{v,0.5}$	SD	$d_{v,0.9}$	SD
Lactohale LH200 32 -125 μm	83,14	1,34	26,67	2,14	80,92	1,58	140,62	1,52
Supertab21AN 32 -125 μm	79,96	0,38	10,52	2,83	78,72	0,59	137,66	2,38
Supertab11SD > 32 μm	81,91	1,26	28,19	2,33	76,19	1,28	145,84	0,88

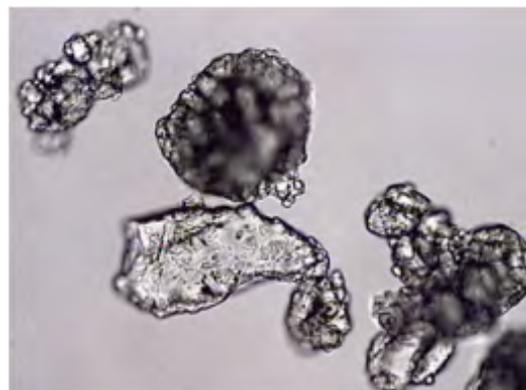
(SD = écart-type, VMD = Diamètre moyen en volume)



A



B



C

Figure C.1.1 Images microscopiques (x20) de : A. Lactohale LH 200 (32-125 μm). B. Supertab21AN (32-125 μm). C. Supertab11SD > 32 μm

La taille moyenne des fractions de lactose est sensiblement similaire bien que la fraction 32-125 du béta lactose anhydre ait un $d_{v,0,1}$ plus faible.

Sous microscope optique, ces trois types de lactose montrent une différence importante de forme des particules, d'indice de réfraction et de rugosité. Des précautions doivent être prises lors de l'interprétation des résultats de granulométrie par diffraction laser en voie liquide.

Les particules de Lactohale LH200 32-125 μm ont une forme spécifique, pyramidale. La surface est lisse et exempte de fines particules.

Les particules du Supertab21AN (béta-lactose anhydre) 32-125 μm ont une forme non spécifique et sont très réfractives à la lumière.

Les particules de Supertab21AN > 32 μm se présentent sous une forme plus ou moins sphérique, due au procédé de fabrication par nébulisation. La surface est rugueuse. Le tamisage à dépression d'air à forte intensité ne peut pas éliminer la fraction fine du Supertab11SD, d'où la présence de fines particules adhérant à la surface des grandes particules dans le champ d'observation.

La teneur en eau et la masse volumique sont présentées dans le tableau C.1.3. La teneur en eau du Supertab21AN confirme l'état anhydre des cristaux. Par contre, une faible quantité d'eau adsorbée à la surface des particules est détectée. La teneur en eau du Supertab11SD est sensiblement inférieure à celle du Lactohale LH200 ce qui est expliqué par la présence d'une partie amorphe dépourvue d'eau dans la structure.

Concernant la densité, une différence significative est remarquée entre les différents polymorphes (Test Fischer, $F = 964.9 > F_{critique} = 3.4$). La densité de la forme béta anhydre est plus grande que celles des autres polymorphes.

Tableau C.1.3. Teneur en eau et masse volumique des différents lactoses

Produit	Teneur en Eau	Ecart-type	Densité	SD
Lactohale LH200 32-125 μm	5,13%	0,22%	1,5353	0,0010
Supertab21AN 32-125 μm	0,31%	0,10%	1,5801	0,0014
Supertab11SD >32 μm	4,76%	0,28%	1,5479	0,0035

Les thermogrammes obtenus en DSC confirment les structures cristallines des polymorphes du lactose (Figure C.1.2) ⁵.

- Le thermogramme du Supertab21AN présente un pic endothermique à environ 240°C. C'est la fusion accompagnée par la décomposition du bêta lactose. Le pic de déshydratation n'est pas présent. Cela confirme donc l'état anhydre du bêta lactose.
- Le thermogramme du Lactohale LH200 possède 2 pics endothermiques à environ 150°C et 220°C qui sont respectivement la déshydratation du lactose monohydrate et la fusion accompagnée par la décomposition de l'alpha lactose.
- Le cas du Supertab11SD est plus complexe et difficile à interpréter. Il présente également 2 pics endothermiques à environ 150°C et 220°C qui sont dus à la déshydratation d'alpha - lactose monohydrate et à la fusion d'alpha lactose. Cette observation indique que l'alpha-lactose monohydrate est le composant principal de ce lactose « spray-dried ». Cette conclusion est confirmée par le fait que la teneur en eau du Supertab11SD est de 4,76%, proche de celle de l'alpha-lactose monohydrate. Par contre, les phénomènes de déshydratation et fusion sont légèrement différents ceux de l'alpha-lactose monohydrate.

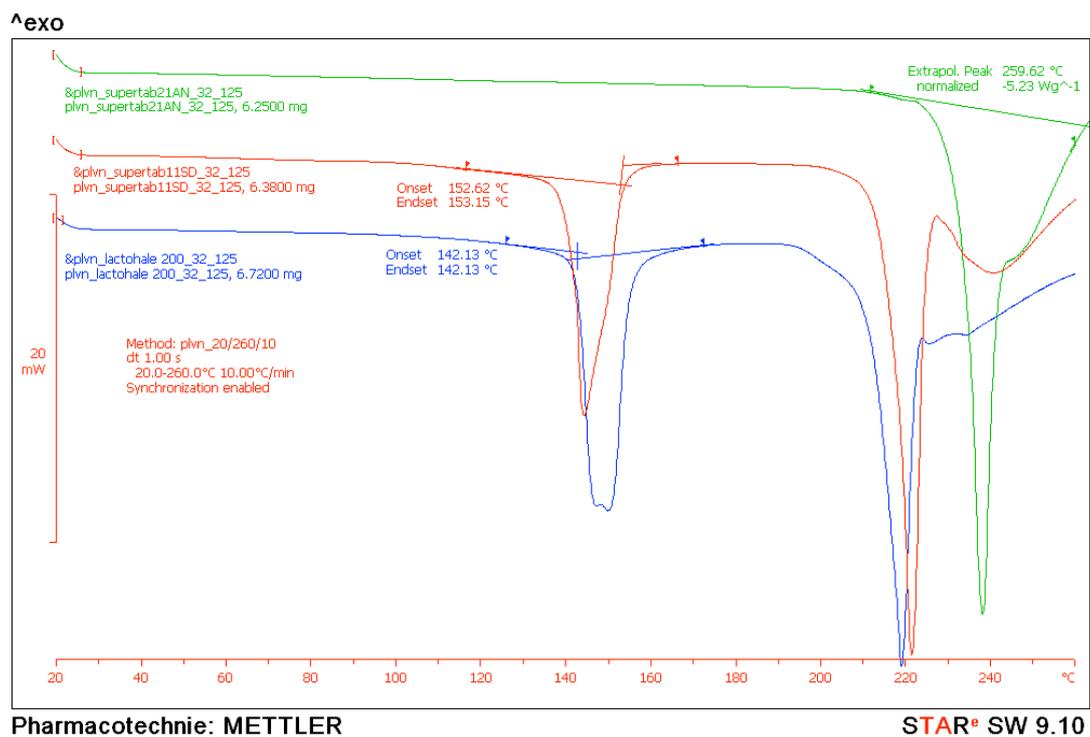


Figure C.1.2. Thermogrammes des fractions de polymorphes de lactose.

Les propriétés rhéologiques des lactoses sont présentées dans les tableaux C.1.4 et C.1.5.

Tableau C.1.4. Aptitude au tassement des fractions de lactose.

Produit	Temps				
	d'écoulement (s)	V ₀ (mL)	V ₁₀ (mL)	V ₅₀₀ (mL)	V ₁₀ -V ₅₀₀ (mL)
Lactohale LH200 32- 125µm	5,30 (±0,10)	131,00 (±1,00)	130,33 (±0,58)	117,33 (±0,58)	13,00
Supertab21AN 32- 125µm	6,90 (±0,36)	153,33 (±1,15)	142,00 (±0,00)	128,00 (±1,00)	14,00
Supertab11SD >32 µm	6,70 (±0,70)	163,00 (±1,00)	151,33 (±1,15)	136,67 (±1,53)	14,67

Tableau C.1.5. Angle de repos des transporteurs (n = 3 ; CV coefficient de variation)

	Angle de repos (°)	CV	Remarque	Aptitude à l'écoulement
Lactohale LH200 32-125µm	36,90	4,31 %	Écoulement libre	Assez bonne
Supertab21AN 32-125µm	31,46	3,53 %	Écoulement libre	Bonne
Supertab11SD >32 µm	25.31	3.27%	Écoulement libre, adhésion sur les parois en verre	Excellente

Les résultats d'angle de repos, de temps d'écoulement mesuré par la méthode de l'entonnoir et d'aptitude au tassement permettent d'évaluer la rhéologie de la poudre. Les trois lactoses s'écoulent plus ou moins facilement. Concernant le Supertab11SD, sa forme sphérique facilite l'écoulement d'où une excellente aptitude à l'écoulement.

L'étude de la perméabilité du lit de poudre permet d'évaluer la structure de la poudre. Malgré la présence de fines particules, le lit de poudre de Supertab11SD est le plus perméable. Cela pourrait être expliqué par le fait que les fines particules ne sont pas dans les espaces inter-particulaires et sont bien fixées à la surface des grandes particules qui sont « actives » du fait de l'état amorphe, facilitant ainsi l'écoulement de l'air à travers le lit de poudre. En plus, l'empilement des particules sphériques de taille similaire laisse beaucoup d'espaces interstitiels. Le volume apparent de ce lactose est

donc le plus grand (Tableau C.1.4). Il révèle une structure de lit de poudre plus poreuse dont une perméabilité plus grande. Les résistances à l'écoulement d'air du Lactohale LH200 et du Supertab21AN sont similaires avec une supériorité pour le Lactohale LH200.

Tableau C.1.6. Perméabilité au perméabilimètre de Blaine (n=24)

Transporteur	Temps d'écoulement de l'air (s)	Écart-type	CV
Lactohale LH200 32- 125µm	1,56	0,04	2,65%
Supertab21AN 32-125µm	1,49	0,07	4,73%
Supertab11SD > 32µm	0,94	0,02	2,09%

2. Caractéristiques des mélanges

Après mélange avec le sulfate de terbutaline micronisé, l'écoulement de la poudre évalué par l'angle de repos est sensiblement amélioré (tableau C.1.7). Les fines particules de principe actif pourraient jouer un rôle d'agent de glissement dans les mélanges. Il est noté que le comportement rhéologique des mélanges est similaire à celui de leur transporteur. Ce dernier permet de prévoir l'aptitude à l'écoulement du mélange à partir de celui du transporteur lors du développement galénique.

Tableau C.1.7. Angle de repos des mélanges (n=3)

Mélange	Angle de repos	CV	Remarques	Aptitude à l'écoulement	Angle de repos du transporteur avant mélange
Lactohale LH200 32-125 µm + TBS	33,10	1,29%	Écoulement libre	Bonne	36,90
Supertab21AN 32-125µm + TBS	33,73	3,21%	Formation de "voûte"	Bonne	31,46
Supertab11SD > 32µm + TBS	24,58	2,91%	Écoulement libre, disparition du phénomène d'adhésion sur les parois	Excellente	25,26

Tableau C.1.8. Perméabilité des mélanges (n=24)

Mélange	Temps d'écoulement de l'air (s)	Écart-type	CV	Temps d'écoulement pour le transporteur avant mélange (s)	t _{après} - t _{avant}
Lactohale LH200 32-125 µm + TBS	2,12	0,11	5,26%	1,56	0,56
Supertab21AN 32-125 µm + TBS	2,04	0,05	2,57%	1,49	0,55
Supertab11SD >32µm + TBS	1,08	0,03	2,78%	0,94	0,14

Après addition du principe actif, les mélanges avec le Lactohale LH200 et le Supertab21AN sont plus résistants à l'écoulement de l'air. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que les fines particules de principe actif se trouvent libres dans les espaces inter - particulaires du lit de poudre, d'où l'augmentation du temps d'écoulement de l'air qui passe à travers le lit de poudre. Le mélange avec le Supertab11SD révèle un phénomène intéressant : la perméabilité du lit de poudre est presque inchangée après avoir ajouté un grand nombre de fines particules de principe actif. Ces dernières pourraient être fixées aux surfaces très « actives » du lactose amorphe ⁶ et ne pas être à l'état libre.

La qualité des mélanges est évaluée par la teneur en principe actif et l'homogénéité. On peut noter que la durée de mélange de 2h est suffisante pour avoir une bonne homogénéité avec un coefficient de variation inférieur à 3 %. La teneur en sulfate de terbutaline retrouvée est proche de la quantité pesée (1,46%). Les mélanges sont ensuite soumis au tamiseur à dépression d'air Alpine pour évaluer l'adhésion du principe actif sur le transporteur. Les résultats sont présentés dans le tableau C.1.9. Pour mieux comparer les mélanges, les résultats du test d'évaluation de l'adhésion sont présentés sur un graphique (Figure C.1.3).

Tableau C.1.9. Qualité et évaluation de l'adhésion des mélanges (SD = écart type)

Mélange	Lactohale 200 32-125 µm +TBS		Supertab21AN 32-125 µm +TBS		Supertab11SD > 32 µm +TBS	
Teneur en TBS (%)	1,51 % (CV: 0,62%)		1,52 % (CV: 0,74%)		1,52 % (CV: 2,07%)	
Temps de fonctionnement de l'Alpine (s)	% de TBS restant sur le tamis	SD	% de TBS restant sur le tamis	SD	% de TBS restant sur le tamis	SD
0	100,00%	0,62%	100,00%	0,74%	100,00%	2,07%
5	78,93%	0,82%	78,00%	2,52%	94,75%	2,91%
30	58,32%	0,74%	65,93%	2,63%	86,89%	1,66%
60	53,84%	0,83%	57,70%	4,79%	85,96%	2,01%
150	46,73%	1,07%	53,79%	2,62%	83,01%	1,24%
300	47,62%	0,78%	53,60%	1,25%	83,12%	1,94%

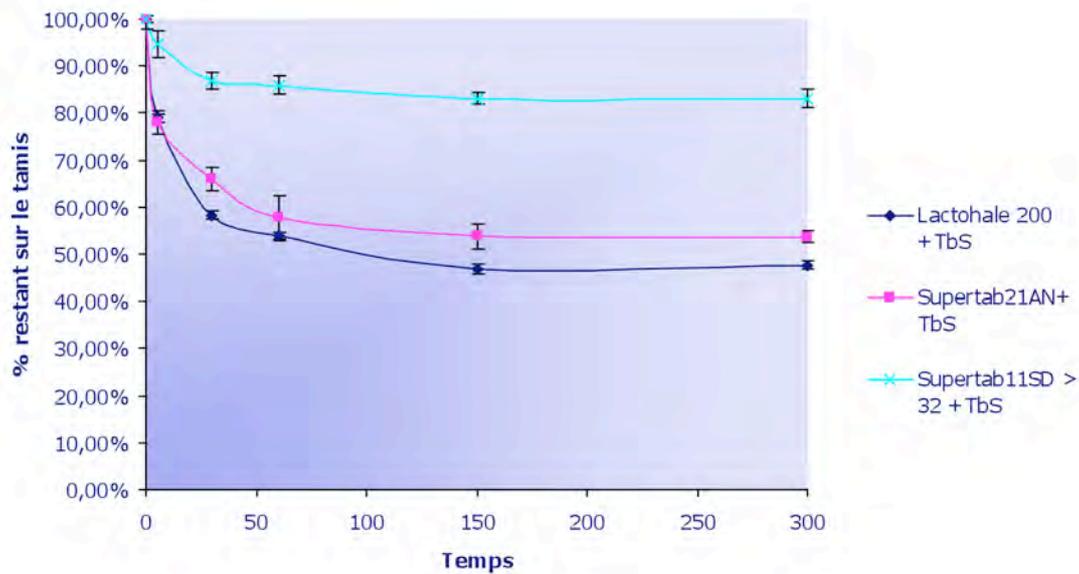


Figure C.1.3. Évaluation de l'adhésion du TBS sur le transporteur par le tamiseur à dépression d'air

En étudiant le graphique C.1.3, nous pouvons constater qu'après soumission des mélanges à l'aspiration, les particules de sulfate de terbutaline sont rapidement entraînées par le courant d'air. La teneur en principe actif restant sur le tamis diminue brutalement la première minute puis présente une stabilisation jusqu'à la fin du test, à 5 minutes. Dans ces conditions d'expérience, le profil de teneur en principe actif en fonction du temps permet d'évaluer l'intensité de l'adhésion du principe actif sur le transporteur. Dans le cas du lactose partiellement amorphe (Supertab 11SD > 32 μm), le profil d'adhésion est très différent des autres. Après aspiration par le tamiseur, un pourcentage élevé de sulfate de terbutaline reste adhérent sur le Supertab 11SD, de l'ordre de 80% après 5 minutes de fonctionnement du tamiseur Alpine. De ce fait, la fraction de particules fines de TBS à partir de ce mélange risque d'être beaucoup plus faible comparativement aux deux autres mélanges. En effet ce test peut « simuler » le comportement du mélange lors de l'inhalation par le patient. Concernant les deux autres mélanges, le profil est visiblement similaire. Notons que la libération du sulfate de terbutaline semble un peu plus facile dans le cas du mélange avec le Lactohale LH200 32-125 μm par rapport au Supertab 21 AN 32-125 μm . Le test de performance aérodynamique confirme les résultats obtenus lors de l'évaluation de l'adhésion au tamiseur Alpine (Figure C.1.4). Il est constaté qu'un bon écoulement conduit à une dose émise importante. Les mélanges avec le Supertab 21 AN 32-125 μm et le Supertab 11SD

> 32 μm, ayant une bonne aptitude à l'écoulement (faible angle de repos) ont les meilleures doses émises.

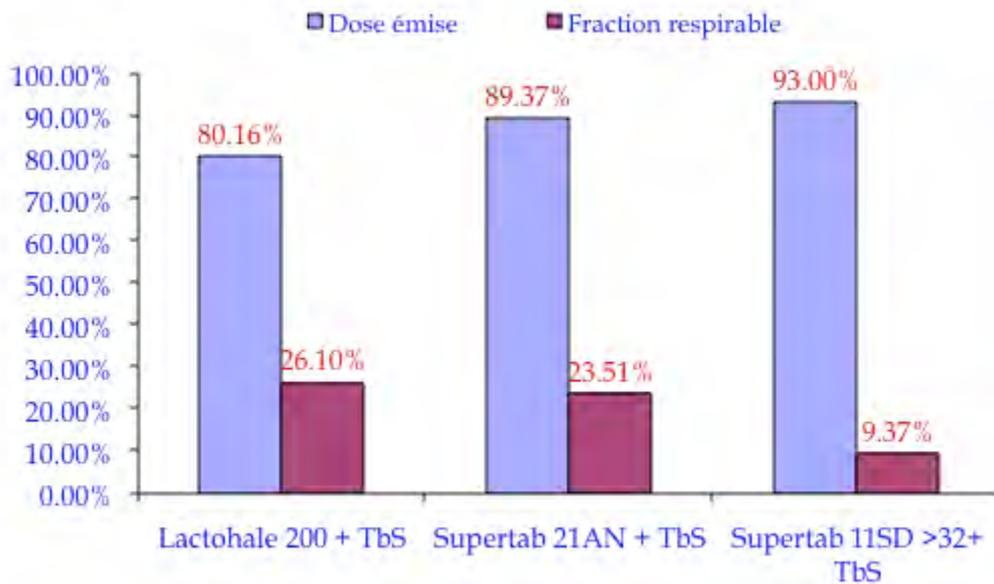


Figure C.1.4. Performance aérodynamique des mélanges

Nous avons remarqué une très bonne corrélation entre le pourcentage de principe actif libéré à 30 s sur le tamiseur à dépression d'air et la fraction de particules fines avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,9943 (Figure C.1.5). Cela confirme l'étude précédente qui indiquait la même tendance. La méthode du tamisage par dépression d'air permet d'évaluer l'adhésion principe actif – transporteur lors du développement galénique.

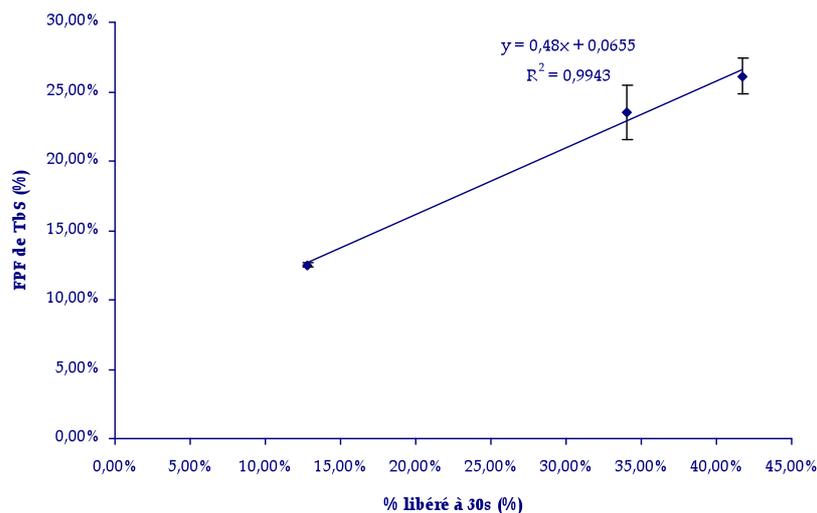


Figure C.1.5. Corrélation entre le pourcentage du principe actif libéré à 30s au tamiseur Alpine et la fraction de particules fines du TBS

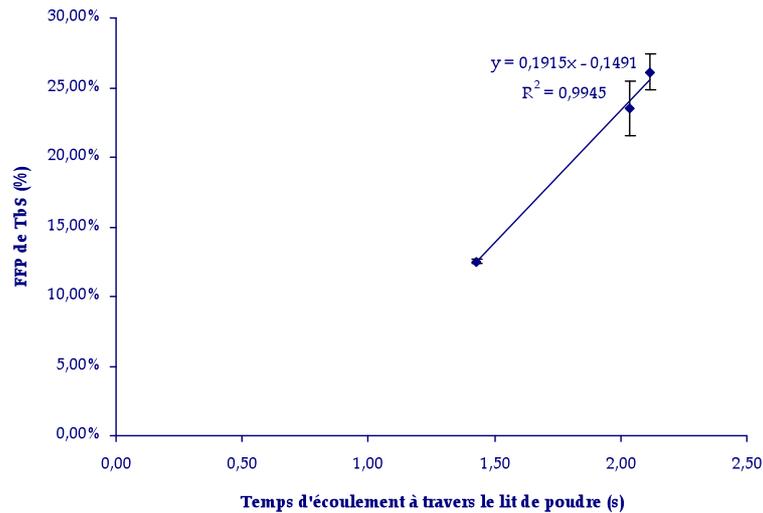


Figure C.1.6. Corrélation entre la perméabilité du mélange et la fraction de particules fines

De même, une bonne corrélation entre temps d'écoulement d'air à travers le lit de poudre et la fraction de particules fines est observée avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,9945. En comparant ces résultats à ceux obtenus lors des études précédentes, une linéarité est toujours trouvée avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,9145. La perméabilité de lit de poudre pourrait être un paramètre physique intéressant pour étudier le processus d'aérosolisation de la poudre.

IV. CONCLUSION & PERSPECTIVES

Dans cette étude, les caractéristiques des polymorphes de lactose disponibles sont déterminées dans le but de les utiliser dans les formulations de poudre pour inhalation. La qualité et la dispersion aérodynamique du mélange sont ensuite évaluées. Les résultats ont montré que les propriétés du transporteur ont une influence importante sur celles du mélange, notamment les propriétés rhéologiques. L'étude de l'adhésion par la méthode développée est très utile pour mesurer l'intensité de l'interaction du principe actif et du transporteur. Elle a montré que le principe actif est fortement adhérent au lactose partiellement amorphe comme le Supertab 11SD. En plus, la forme amorphe est thermodynamiquement et chimiquement non stable. Il est donc déconseillé d'utiliser cette forme de lactose dans les poudres pour inhalation. La teneur amorphe de lactose doit être bien contrôlée avant de l'utiliser.

Les autres polymorphes, notamment l'alpha lactose monohydrate et le bêta lactose anhydre, sont appropriés pour les mélanges pour inhalation. Il est nécessaire de choisir la granulométrie et les propriétés rhéologiques convenables pour chaque principe actif.

Les propriétés physicochimiques du transporteur, notamment, la densité mesurée au pycnomètre à hélium, la teneur en eau, l'analyse thermocalorimétrique à balayage permettent de distinguer les différents polymorphes de lactose. La détermination de ces propriétés est nécessaire.

En continuité avec les études précédentes, nous avons trouvé que la perméabilité du lit de poudre est un outil potentiel pour évaluer les transporteurs et les mélanges. La réduction de perméabilité du mélange conduit à une augmentation de la fraction de particules fines. La structure du lit de poudre est donc une propriété importante dans l'interaction avec le fluide d'air lors de l'inhalation.

Références.

1. Baldrick, P. & Bamford, D.G. A toxicological review of lactose to support clinical administration by inhalation. *Food Chem. Toxicol* **35**, 719-733 (1997).
2. Bolhuis, G.K. & Chowhan, Z.T. Materials for Direct Compaction. *Pharmaceutical powder compaction technology* (1996).
3. Rowe, R. & American Pharmacists Association. *Handbook of pharmaceutical excipients*. (Pharmaceutical Press; American Pharmacists Association: London; Chicago; Washington DC, 2009).
4. Le, V.N.P., Robins, E. & Flament, M.P. Air permeability of powder: A potential tool for Dry Powder Inhaler formulation development. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **76**, 464-469 (2010).
5. Lerk, C.F. Physicochemical properties of lactose. *22nd Proceedings of the International colloquium on Industrial Pharmacy* 59-89 (1983).
6. Louey, M.D., Mulvaney, P. & Stewart, P.J. Characterisation of adhesional properties of lactose carriers using atomic force microscopy. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **25**, 559-567 (2001).

Chapitre 7

CARACTÉRISATION DE DIFFÉRENTS LOTS DE PROPIONATE DE FLUTICASONE. INFLUENCE DE L'AGGLOMÉRATION SUR LA PERFORMANCE AÉRODYNAMIQUE DU MÉLANGE

I. ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Le propionate de fluticasone est un glucocorticoïde largement utilisé dans le traitement de l'asthme et de la broncho-pneumopathie chronique obstructive (1). Les formulations avec l'alpha lactose monohydrate sont utilisées dans les inhalateurs à poudre sèche. La technique de micronisation à jet d'air est souvent utilisée pour fabriquer le grade respirable du propionate de fluticasone (à savoir taille inférieure à 5 μm). Étant donné que la micronisation est une opération difficilement contrôlable, les différents lots de propionate de fluticasone ont souvent des propriétés cohésives – adhésives très différentes. Price et al ont rapporté une variation très importante du profil cohésif – adhésif de différents lots de FP (propionate de fluticasone) (2). Cela conduit à la variation de qualité des mélanges avec le transporteur. Notre travail a pour but de trouver un moyen concret pour caractériser les lots de FP afin de détecter les défauts de qualité avant la production.

Une étude bibliographique a été réalisée pour mettre à jour les connaissances actuelles, spécialement concernant la cristallinité du FP. Le propionate de fluticasone a été obtenu sous une forme cristalline, nommée forme I, en dissolvant le produit brut dans de l'acétate d'éthyle puis en le recristallisant (3). Il a aussi été montré que des techniques de séchage par pulvérisation standard (nébulisation) de la solution dans l'acétone mènent uniquement à la forme I connue du propionate de fluticasone. (4) Certaines conditions du procédé de fluide supercritique peuvent conduire à la forme I.

La forme II du FP peut être fabriquée par la technique du fluide supercritique. La forme II est orthorhombique tandis que la forme I est monoclinique. Dans certaines conditions expérimentales de la technique du fluide supercritique, le mélange Forme I et Forme II est obtenu. La forme II peut être caractérisée par exemple par son spectre de diffraction de poudre aux rayons X (XRPD) (5) (Figure C.2.1. et tableau C.2.1).

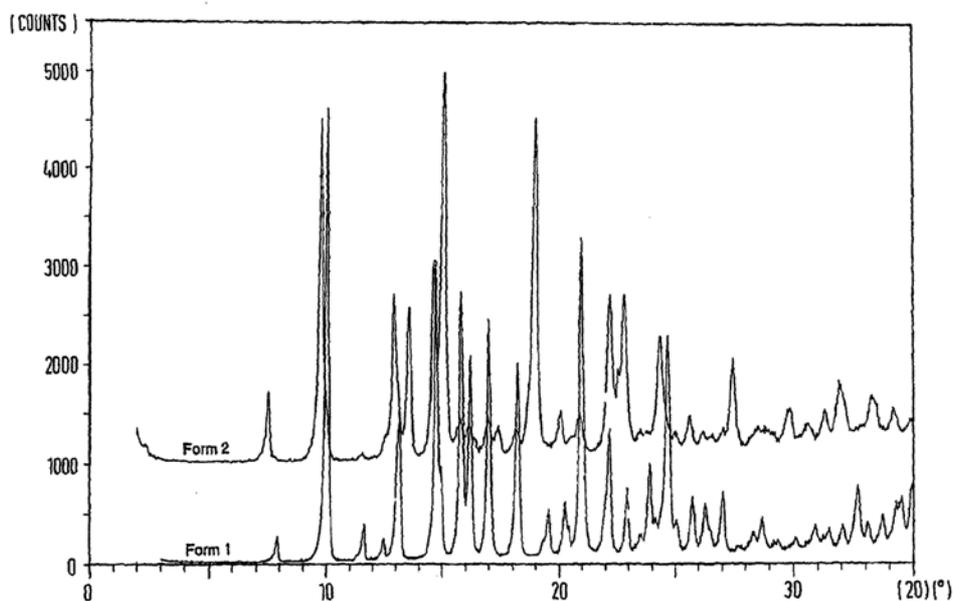


Figure C.2.1. Diffractogramme des forme I et forme II du propionate de fluticasone (Siemens D 500 ou Philips X'pert MPD, 2θ de 1,5 à 60 ou 0° à 30° , $\text{CuK}\alpha$ radiation)

Tableau C.2.1. Différences entre forme I et forme II du FP lors de la diffraction des rayons X.

Polymorphe	Pics primaires		Pics secondaires						
Forme I	7,9	10	11,5	12,4	13,1	-	14,9	-	15,8
Forme II	7,6	9,8	-	-	13,0	13,6	-	15,2	-

La forme II est métastable. Cependant, au cours du stockage (64 semaines à température ambiante), il n'y a pas de conversion de forme II en forme I (Figure C.2.2.).

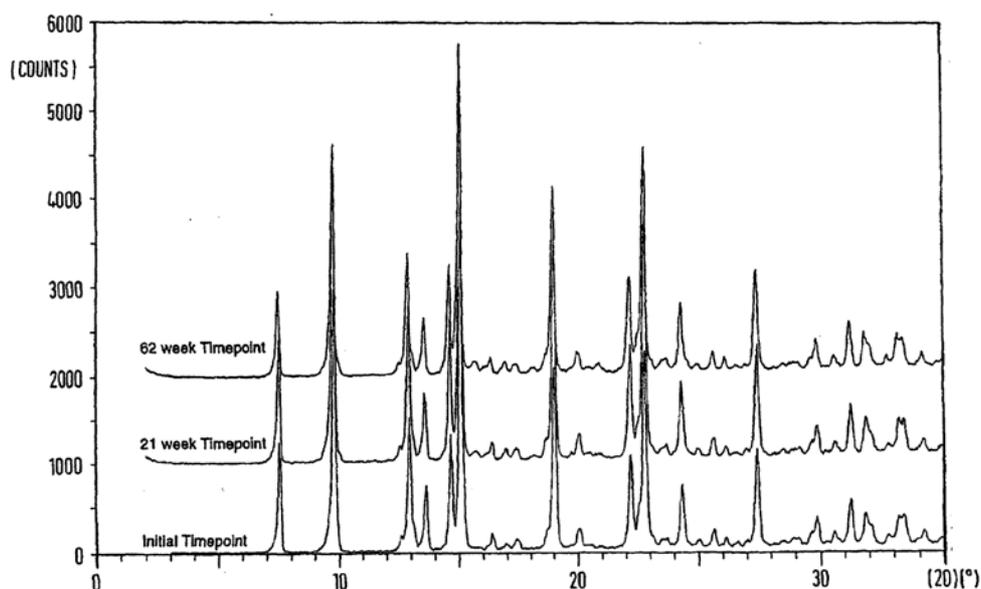


Figure C.2.2. Stabilité de la forme II

La performance aérodynamique de la forme II (2 lots A et B) a été comparée à celle du FP micronisé (forme I) (Tableau C.2.2). Les données indiquent que le propionate de fluticasone forme II est plus facilement fluidisé et qu'il a de meilleures propriétés d'écoulement. Une meilleure dose délivrée a été notée pour la forme II, par contre, il n'y a pas d'amélioration significative du dépôt à l'étage 2 de l'impacteur à cascade en verre.

Tableau C.2.2. Performance aérodynamique de la forme II du FP comparée à la forme I (FP micronisé).

	Taille			Performance aérodynamique au Twin Stage Impinger			
	Diamètre moyen (µm)	% < 5µm	% < 10µm	% au niveau de l'inhalateur	Dose émise (%)	Stage I (%)	Stage II (%)
FP micronisé	1-3	> 90	>95	40	60	43	17
Forme II A	4,0	61	84	36	64	47	17
Forme II B	8,4	27	59	28	72	58	14

Les études sur la caractérisation du propionate de fluticasone sont très limitées. Louey et al. ont comparé les propriétés du FP micronisé par un broyeur à jet d'air et du FP nébulisé à partir d'une solution organique. Pour le FP nébulisé, une transition de phase amorphe - cristalline a été observée dans la zone de température de 100-120°C. Cependant, la teneur en amorphe n'a pas une influence significative sur la performance aérodynamique qui est dominée dans cette étude par la morphologie des particules, e.g. la sphéricité des particules nébulisées (6).

II. PARTIE EXPÉRIMENTALE : *Caractérisation des lots de propionate de fluticasone*

Trois lots de propionate de fluticasone : 92275, 0712/019/410 et 80757 issus de deux fournisseurs sont comparés.

Différentes méthodes de caractérisation sont employées : d'une part les méthodes d'analyse de l'état solide comme l'analyse calorimétrique différentielle, la diffraction des rayons X sur poudre et d'autre part, les méthodes d'analyse des propriétés de la population de particules comme l'analyse granulométrique classique ou par la technique du Spraytec®, la mesure de la surface spécifique...

2.1. Analyse calorimétrique différentielle (DSC)

2.1.1 Optimisation des conditions de mesure - Influence de la vitesse de balayage

L'appareil utilisé est un calorimètre DSC1 Star System (Mettler Toledo). L'échantillon est placé dans une capsule d'aluminium perforée ce qui permet à l'eau éventuellement présente de quitter plus facilement l'échantillon. La référence est une capsule d'aluminium vide. L'appareil est calibré à l'indium.

Le premier test a été réalisé à la vitesse de balayage de 5°C/min. Il est noté que les pics ne sont pas bien séparés. Un pic endothermique de très faible intensité à environ 280°C est suivi tout de suite par un pic exothermique de beaucoup plus grande intensité. Il s'agit d'une fusion accompagnée par une dégradation. L'observation du résidu dans la capsule après l'essai confirme la dégradation du propionate de fluticasone.

Pour mieux cerner les événements thermiques, différentes vitesses de balayage sont utilisées. Cette stratégie expérimentale est basée sur la théorie de l'analyse calorimétrique et l'équation du flux de chaleur (7):

$$\text{Flux de chaleur} = \text{Vitesse de balayage} \times \text{Chaleur spécifique}$$

Plus la vitesse de chauffe est importante, plus le flux de chaleur est grand. Les phénomènes thermiques sont ainsi accentués.

Les échantillons étudiés sont donc chauffés de 20 à 400 °C aux différentes vitesses de 5°, 10°, 20° et 40 °C/min sous un balayage d'azote de 40 ml/min. Le propionate de fluticasone lot 92275 a été analysé dans un premier temps.

A différentes vitesses de balayage, la forme des thermogrammes du propionate de fluticasone (lot 92275) est similaire mais leur point de départ et l'énergie des phénomènes thermiques sont très différents. Une explication pour la différence de point de départ serait le décalage de transfert thermique à partir du four vers l'échantillon. Grâce à l'effet de vitesse de balayage, l'observation des phénomènes thermiques à très faible intensité est ainsi possible. (Figure C.2.3)

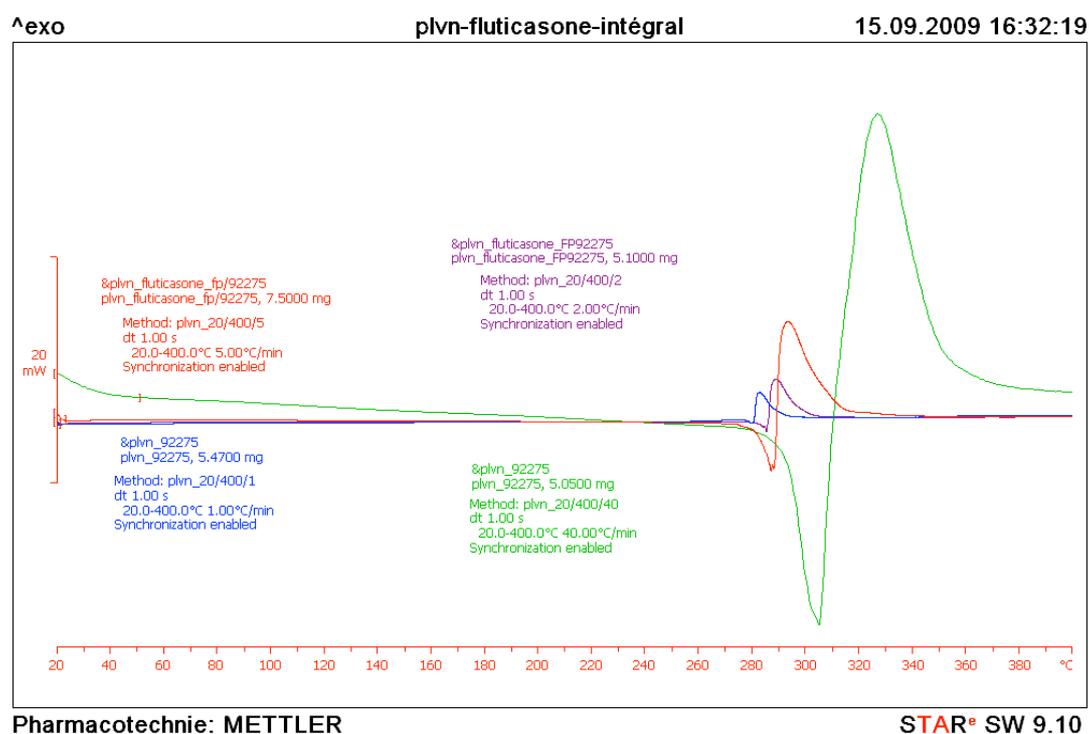


Figure C.2.3. Thermogrammes du FP lot 92275 à différentes vitesses de balayage

La vitesse de 40°C/min est celle qui permet de mieux séparer les évènements et sera celle retenue pour la comparaison des lots de fluticasone.

2.1.2. Comparaison des lots de Fluticasone

Les échantillons étudiés sont chauffés à la vitesse de 40 °C/min de 20 à 400 °C sous un balayage d'azote de 40 ml/min. La vitesse de chauffe est élevée pour essayer de mettre en évidence les phénomènes thermiques possibles. Les trois lots de propionate de fluticasone suivants ont été analysés :

- le propionate de fluticasone lot 80757
- le propionate de fluticasone lot 0712/019/410
- le propionate de fluticasone lot 92275

Les thermogrammes obtenus sont présentés dans la figure C.2.4. Un pic endothermique vers 307°C suivi par un événement exothermique est observé. La structure du pic de fusion est composée de 2 pics très rapprochés. Ceci pourrait avoir plusieurs origines :

- un mélange de formes polymorphiques, soit les forme I et forme II décrites dans la littérature.
- une distribution bimodale du propionate de fluticasone : deux populations de particules de tailles différentes qui fondent à différente vitesse.

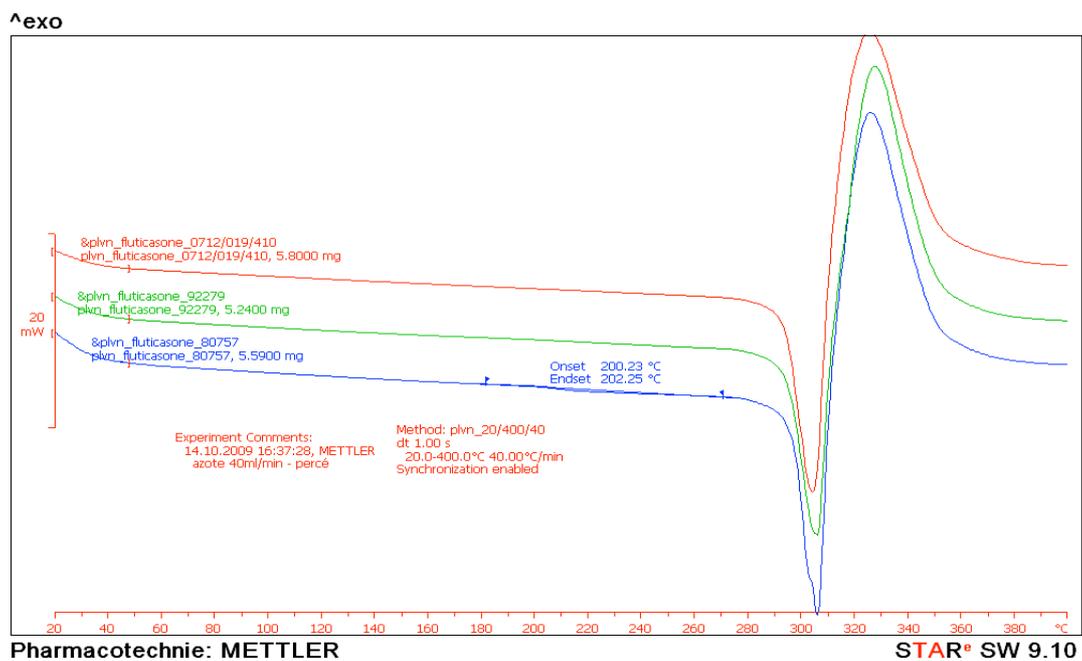


Figure C.2.4. Thermogrammes des différents lots de FP à 40°C/min

Un phénomène thermique à environ 200°C est remarqué pour le lot FP80877. Ce phénomène pourrait être expliqué par une transition polymorphique ou une transition vitreuse. Pour mieux observer ce phénomène, les échantillons sont soumis à des cycles de chauffe.

2.1.3. Influence des cycles de chauffe :

Les cycles de traitement thermique ont pour but de différencier les événements irréversibles de l'échantillon, à savoir la transition amorphe - cristalline, la dégradation... Notons que le phénomène éventuellement présent a lieu à 200°C, donc des cycles de chauffe -refroidissement de 0 à 210°C sont effectués selon le protocole suivant:

- Refroidir l'échantillon à 0 °C pendant 10 min.
- 1^{ere} chauffe : la température est augmentée de 0°C à 210°C à une vitesse de 40°C/min. Maintenir l'échantillon à 210°C pendant 1h
- Refroidir l'échantillon de 210°C à 0°C, à la vitesse de 40°C/min. Maintenir à 0°C pendant 1h
- Effectuer une 2^{eme} chauffe, de 0 à 210°C, à la vitesse de 40°C/min

Les thermogrammes ainsi obtenus sont présentés dans la figure C.2.5. L'objectif de cette expérience est de mettre en évidence un éventuel phénomène de transition de phase pour les différents lots de fluticasone. Pour le lot 92275, après un cycle de chauffe à 210°C pendant une heure, un changement de ligne de base du thermogramme est détecté. Il pourrait y avoir une transition polymorphique - polymorphique ou amorphe - cristalline.

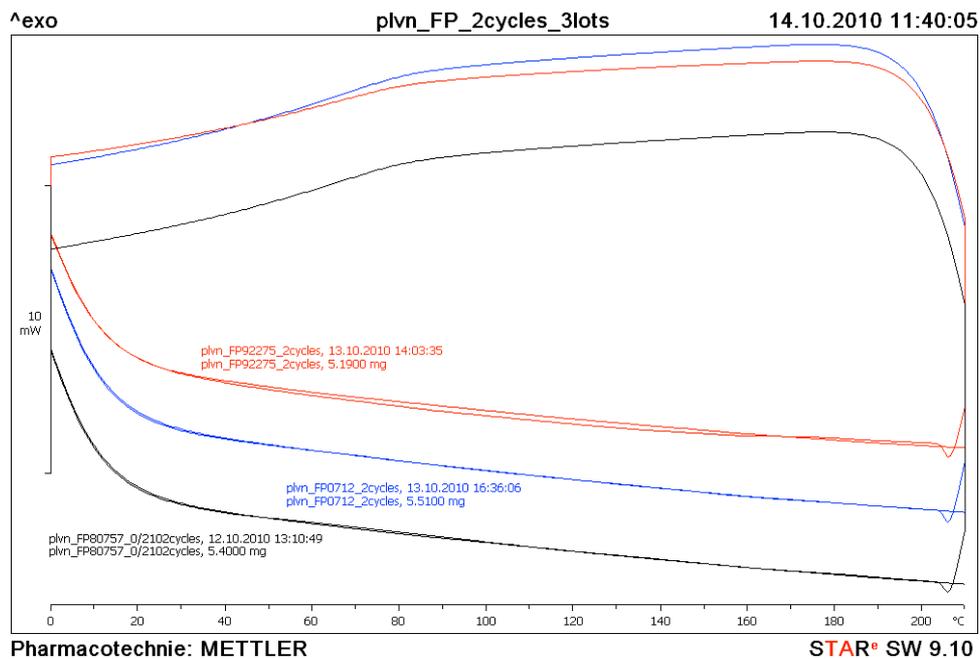


Figure C.2.5. Thermogrammes de lots de FP – Étude des cycles de chauffe.

Pour mieux appréhender cette transition, les échantillons du lot FP 92275 sont conservés dans 2 conditions de température : à 100°C et 60°C pour accélérer l'éventuelle transition. Après 1 mois, le phénomène de transition n'est plus observé sur les thermogrammes après des cycles de chauffe (Figure C.2.6.). Il s'agit donc d'un phénomène de transition qui est accéléré par la température.

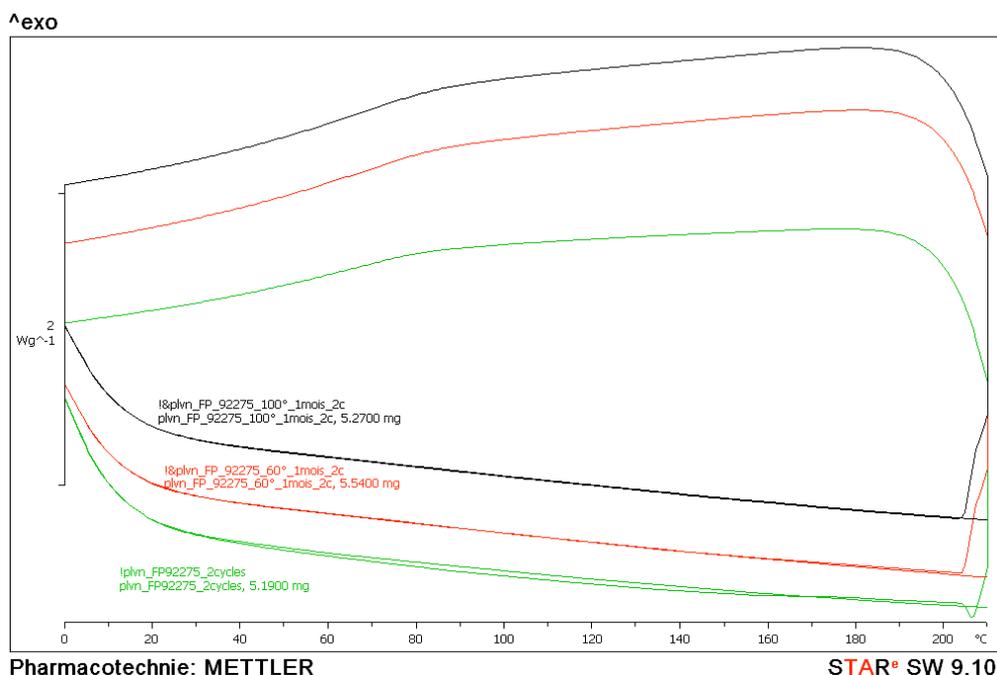


Figure C.2.6. Thermogrammes du FP lot 92275 après conservation à 100°C et 60°C

2.2. Diffraction des rayons X sur poudre

Pour vérifier l'état cristallin des 2 lots de FP qui ont les propriétés thermiques les plus différentes (FP 92275 et FP 80757), la diffraction des rayons X sur poudre a été réalisée sur ces échantillons selon les conditions suivantes (réalisée au Laboratoire de Dynamique et Structures des Matériaux Moléculaires, UMR 8024-CNRS, Université de Lille 1) :

- Les enregistrements des deux échantillons ont été réalisés avec le diffractomètre X'Pert Pro (PANalytical). Le tube est un tube au Cuivre avec $\lambda_{CuK\alpha} = 1,540\text{\AA}$.
- La poudre est placée dans un tube capillaire de diamètre 0,7mm tournant autour de son axe pendant l'enregistrement. La durée d'un enregistrement est de 29 min environ. (On a posé 100sec/pas, 1pas=0,0167° en 2θ)

Intensité

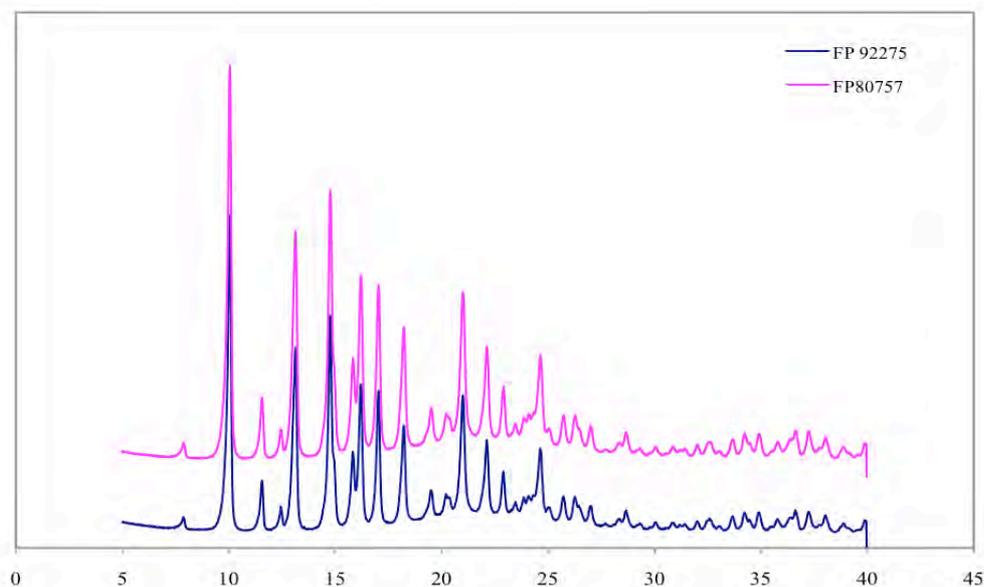


Figure C.2.6. Diffractogrammes des lots FP 92275 et 80757

2 θ

Après étude du diffractogramme et comparaison avec la littérature, il s'agit d'une seule forme polymorphique I.

2.3. Caractérisation des propriétés physicochimiques de la population

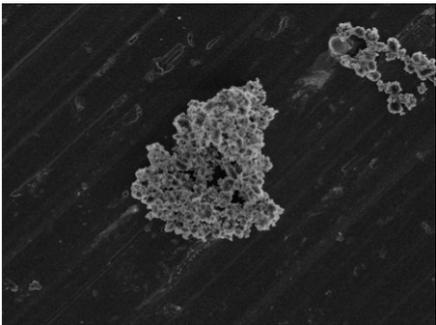
Différentes techniques pour caractériser les propriétés d'un ensemble de particules sont employées, notamment les images par la microscopie électronique à balayage (Plateforme d'Imagerie de l'Université de Lille 1) et l'analyse granulométrique par voie liquide (méthode mentionnée dans la partie « Matériels et Méthodes »).

Une analyse granulométrique par la technique Spraytec® a été réalisée au Laboratoire de Pharmacie et Biopharmacie, Université Libre de Bruxelles.

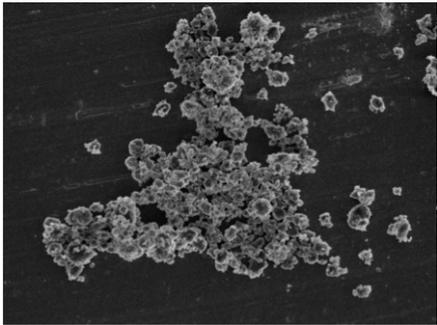
L'énergie de surface par la chromatographie gazeuse inverse est mesurée au Department of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Pharmaceutical Institute, University of Kiel, Allemagne.

La surface spécifique selon B.E.T et la balance cohésive – adhésive sont fournies par Aptar Pharma (Le Vaudreuil, France).

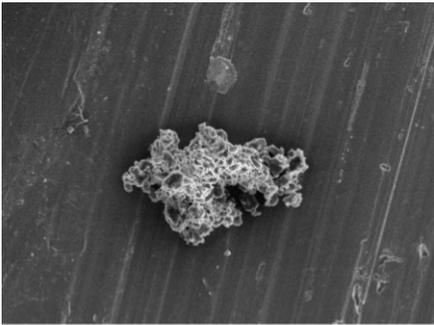
Les résultats sont successivement présentés dans les figures et les tableaux suivants.



FP 92275

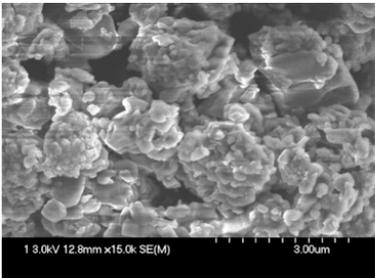


FP 80757

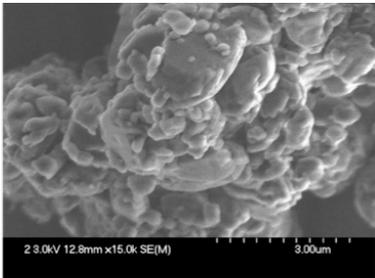


FP 0712/019/410

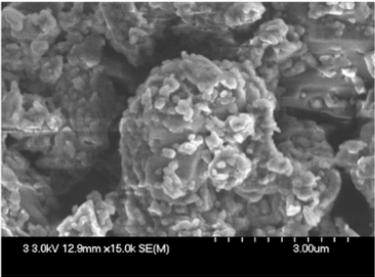
Figure C.2.7. Image MEB des lots de FP ; grossissement 1500



FP 92275



FP 0712/019/410



FP 80757

Figure C.2.8. Image MEB des lots de FP ; grossissement 15000

L'étude des images MEB des différents lots de FP révèle une structure et une morphologie légèrement différente. Dans les figures C.2.7 et C.2.8, on peut remarquer que les deux lots FP 80757 et FP 92275 ont une morphologie similaire tandis que celle du lot FP 0712/019/410 est différente. En fait, les deux lots FP 80757 et FP 92275 sont produits par un même fabricant alors que le lot FP 0712/019/410 provient d'un autre fournisseur qui utilise peut-être un procédé de fabrication différent. Les résultats de l'énergie de surface confirment cette tendance : l'énergie de surface du lot FP 0712/019/410 est supérieure à celles des autres lots (Tableau C.2.4). Dans le lot FP 80757, il y a deux populations de particules : 1 population de particules assez grandes qui présentent à leur surface des particules beaucoup plus petites. Cette observation n'est pas remarquée dans le lot FP 92275, où la taille des particules est sensiblement similaire.

Bien que les différents lots de propionate de Fluticasone aient une taille moyenne assez proche, les autres propriétés physico-chimiques sont différentes.

Les surfaces spécifiques mesurées par la méthode BET décroissent selon l'ordre FP92275>FP80757>FP0712/019/410, et sont corrélées avec les distributions granulométriques (tableaux C.2.3. et C.2.4.).

Tableau C.2.3. Distribution granulométrique des lots de FP

No de lot	D[4,3] (µm)	D(v, 0.1) (µm)	D(v, 0.5) (µm)	D(v, 0.9) (µm)	% <5.69 µm
FP92275	2,80	0,46	2,07	5,79	89,6%
FP80757	2,65	0,52	2,25	5,34	92,14%
FP 0712/019/410	3,30	0,51	2,64	6,97	84,19%

Tableau C.2.4. Surface spécifique par BET, énergie dispersive par IGC et balance cohésion -adhésion (CAB) par AFM des lots de FP

No de lot	Surface spécifique (m ² /g)	Energie de surface par IGC (mJ/m ²)	CAB par AFM
FP92275	6,752	60,90	0,95 ± 0,01
FP80757	5,804	60,27	0,86 ± 0,02
FP 0712/019/410	4,004	64,70	0,71 ± 0,03

L'énergie dispersive de surface du lot FP 0712/019/410, mesurée par la méthode de chromatographie gazeuse inverse est la plus importante tandis que celles du FP 92275 et du FP80757 sont similaires (Tableau C.2.4). Cependant, la caractérisation du propionate de fluticasone par l'énergie dispersive de surface ne peut pas prédire la performance aérodynamique après mélange avec le transporteur. Malgré une énergie de surface similaire, le mélange du lot FP80757 avec le Lactohale LH200 donne une meilleure fraction de particules fines alors que le mélange avec le lot FP92275 a une mauvaise performance aérodynamique.

Tableau C.2.5. Évaluation de la performance aérodynamique des mélanges des différents lots de FP avec le Lactohale LH200 lot 629707

Mélange LactohaleLH200 avec	Dose émise (%)	Fraction de Particules Fines (%)
FP92275	89,21	7,29
FP80757	79,42	17,65
FP 0712/019/410	75,82	12,92

La balance cohésion – adhésion déterminée par la méthode de microscopie à force atomique permet d'évaluer le rapport de la force cohésive fluticasone – fluticasone avec la force adhésive fluticasone – transporteur. Les différents lots de propionate de fluticasone sont différenciés par leur valeur CAB (Tableau C.2.4). Pour les trois lots, le phénomène d'adhésion est plus marqué que celui de cohésion, avec des valeurs de CAB inférieures à 1. L'adhésion est prépondérante pour le lot FP0712/019/410, qui a une mauvaise dose émise. Les particules de ce lot adhèreraient plus facilement sur les parois de la capsule et de l'inhalateur. Une cohésion plus importante constatée pour le lot FP 92275 faciliterait l'agglomération des particules de propionate de fluticasone entre elles. Les agglomérats sortiraient plus facilement du système capsule – inhalateur mais ils ne pourraient pas arriver aux étages inférieurs de l'impacteur.

Le comportement aérodynamique du principe actif seul est évalué par la technique du Spraytec®. Il s'agit d'une mesure de taille aérodynamique par la diffraction laser dans les conditions d'aérosolisation (inhalateur, flux d'air...) (Tableau C.2.7).

Tableau C.2.7. Évaluation de taille aérodynamique des lots de FP par Spraytec®

No de lot	D[4,3] (μm)	D(v, 0.1) (μm)	D(v, 0.5) (μm)	D(v, 0.9) (μm)	% <5.69 μm
FP92275	55,04	3,08	40,15	130,70	20,01
FP80757	26,73	1,73	8,45	68,11	35,72
FP 0712/019/410	24,22	2,29	9,88	74,00	28,80

Pour tous les lots de propionate de fluticasone testés dans les mêmes conditions expérimentales (Handihaler, 90 L/min), l'aérosolisation n'est pas totale. La taille des particules est supérieure à celle déterminée par la voie liquide indiquant une agglomération importante des particules primaires plus ou moins marquée pour chaque lot. Le lot FP92275 est le plus cohésif. Les agglomérats de particules primaires peuvent atteindre une taille de l'ordre de 100 μm (30 particules primaires/agglomérats). Le lot FP80757 est le moins cohésif. Environ 36% des particules (en volume) peuvent être dispersées en particules ayant une taille inférieure à 5,69 μm . Le pourcentage de particules inférieures à 5,69 μm du propionate de fluticasone seul déterminé par la technique Spraytec est corrélé avec la fraction de particules fines obtenue à partir de son mélange avec le LactohaleLH200. Cette observation conduit à une hypothèse : lors de l'aérosolisation des mélanges de propionate de Fluticasone avec le LactohaleLH200, la dispersion des agglomérats de fluticasone présents dans les mélanges pourrait être un phénomène important et concomitant avec le détachement des particules de fluticasone à partir de la surface du lactose.

III. CONCLUSION

Les études de structure cristalline par la diffraction des rayons X et par l'analyse calorimétrique différentielle montrent que ces lots de fluticasone sont de même forme cristalline, à savoir la forme I. Pour le lot le plus cohésif (FP92275), un changement léger de l'état à haute température est observé par les cycles de chauffe lors de l'expérience d'analyse calorimétrique différentielle. Par contre, son diffractogramme est similaire à celui du lot FP80757. La faible sensibilité de la méthode de diffraction des rayons X ne permet pas de détecter la présence de petites quantités de défaut cristallin ou de deuxième forme cristalline (qui a un comportement similaire aux rayons X).

La mesure de l'énergie de surface par IGC est onéreuse mais ne permet pas de prédire le comportement du produit.

Il est difficile d'interpréter les valeurs de CAB. En plus il est fastidieux de déterminer une valeur représentative de l'ensemble de l'échantillon à partir d'un cristal seul.

La technique Spraytec® s'avère être une méthode utile pour mieux caractériser et différencier les lots de propionate de fluticasone, en parallèle des méthodes couramment utilisées comme la diffraction laser par voie liquide, la surface spécifique par BET, l'analyse calorimétrique différentielle...

Références

1. Association nationale des enseignants de pharmacie clinique, CALOP J, LIMAT S, FERNANDEZ C. Pharmacie clinique et thérapeutique. 3rd ed. Paris: MASSON; 2008.
2. Price R. Low and High Shear Blending. Parma, Italy: 2010.
3. Coote SJ, Nice RK, Wipperman MD. PROCEDE POUR LA PREPARATION DU PROPIONATE DE FLUTICASONE, NOTAMMENT DE LA FORME POLYMORPHE 1 [Internet]. 2004 [cited 2010 Nov 8]; Available from: http://fr.espacenet.com/publicationDetails/biblio?KC=A2&date=20041110&NR=1474436A2&DB=fr.espacenet.com&locale=fr_FR&CC=EP&FT=D
4. Louey MD, Van Oort M, Hickey AJ. Aerosol Dispersion of Respirable Particles in Narrow Size Distributions Using Drug-Alone and Lactose-Blend Formulations. Pharm Res. 2004 Jul;21(7):1207-1213.
5. Cooper SM. A NOVEL POLYMORPHIC CRYSTALLINE FORM OF FLUTICASONE PROPIONATE, A METHOD FOR ITS PRODUCTION AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS THEREOF. 2003;
6. Louey MD. Aerosol Dispersion of Respirable Particles in Narrow Size Distributions Produced by Jet-Milling and Spray-Drying Techniques. Pharm Res. 2004 Jul;21(7):1200-1206.
7. Craig D. Thermal analysis of pharmaceuticals. Boca Raton FL: CRC Press/Taylor & Francis; 2007.

Chapitre 8

STUDY ON RHEOLOGICAL PROPERTIES OF CARRIERS AND MIXTURES FOR DRY POWDER INHALER

I. INTRODUCTION

Most of formulations for Dry Powder Inhalers (DPI) consist of a micronized API (Active Pharmaceutical Ingredient) and a carrier. The mixtures with carrier improve the flow properties and facilitate the following manufacturing steps, i.e. capsule filling... ⁽¹⁾ Blending drug with carrier is a critical stage that determines the blend homogeneity and its aerodynamic dispersion. There are two most used blenders in DPI formulations: low-energy tumbling blending and high-energy blending, with paddles or impeller blades actively cutting the powder bed and redistributing powder within the blending vessel ⁽²⁾. In the mixing step, the flow properties of carrier play an important role. A bad flow product requires more mixing time to achieve homogeneity similar to the one obtained with a good flow carrier ⁽³⁾. In fact, in the tumbling blender, the spatial distribution of cohesive powder is time-dependent and depends on the magnitude of cohesion and friction of powder and the rotation speed. The cohesion of powder plays an important role in the mixing rate and segregation ⁽⁴⁾. Thus, next to the drug - carrier interaction, the rheological properties of carrier are one of the critical parameters during pharmaceutical development.

Once mixed, the dry powder formulations must have a sufficiently good flow to be distributed in the device or capsules at industrial scale. The bulk properties of formulations are critical for the filling behaviour ⁽⁵⁾. In recent studies, great attention was made on the complex relationship between the bulk powder properties and the fluidization properties. A decrease in air permeability of powder leads to an increase in

the fine particle fractions of drug – carrier mixture ⁽⁶⁾. It can be explained by the fact that an increase in tensile strength of powder due to a decrease in air permeability conducts to a greater aerodynamic drag when the airflow interacts with powder bed. Furthermore, the fluidization energy is linked with the drug respirable fraction ⁽⁷⁾.

The aim of this work was to study the rheological properties of carriers and of their mixtures used in dry powder inhalers. Different available rheometers are used, such as Powder Flow Analysis module of TaXTPlus® from Stable Micro System and Freeman FT4 Rheometer.

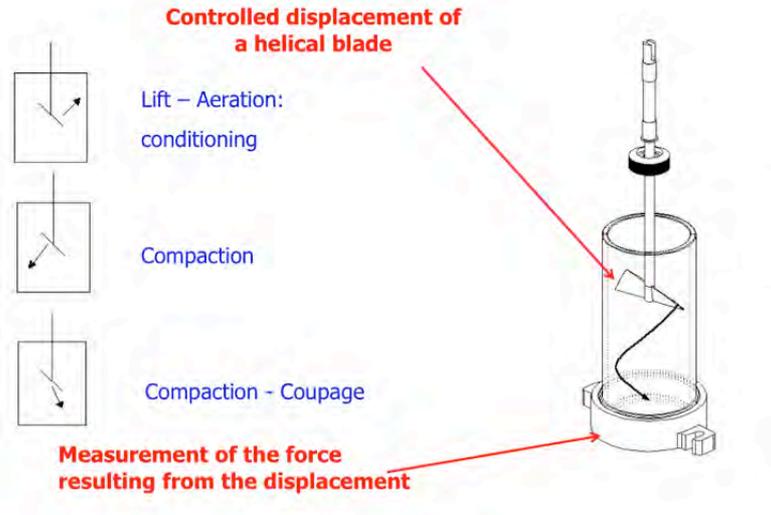
II. MATERIALS AND METHODS

Micronized terbutaline sulphate (TBS) was used as supplied. Inhalac 230 (Meggle, Wasserburg, Germany), two batches (619651 (1) and 634067 (2)) of Lactohale LH200 (Borculo Domo, Zwolle, Netherlands) and Respitose SV010 (DMV-Fonterra Excipient, Netherlands) were used as carrier.

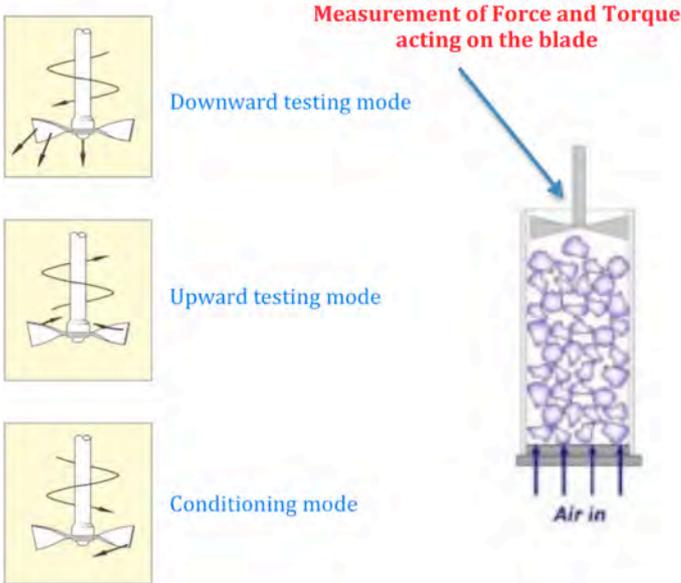
Terbutaline Sulfate (TBS) and lactose were mixed to a ratio of 1:67.5 w/w, in a Turbula mixer (Bachofen Maschinenfabrik, Basel, Switzerland) for 2 hours at 90 rpm. Each blend was prepared in 200 g quantities. The quality of the blends was expressed by the coefficient of variation (CV) of sample drug content (n=20). Quantitative analysis was carried out by spectrophotometry at a wavelength of 277 nm for TBS. Aerodynamic evaluation of fine particle fraction and emitted dose obtained using a Twin Stage Impinger (TSI, Apparatus A, European Pharmacopoeia, 2008). Each deposition experiment involved the aerosolization at 60 l/min via an Inhalator Ingelheim of 5 capsules. For each blend, the assays were performed in triplicate. All samples for analysis were only taken after 24h from mixing step and before any rheological measurements to prevent the artefacts due to the changes of powder structure.

The air permeability of powder mixtures was measured by means of the Blaine's apparatus. The procedure was described in a previous study ⁽⁶⁾. The angle of repose, bulk and tapped density and powder flow rate were determined by the European Pharmacopoeia methods. All experiments were performed in controlled temperature and relative humidity (20±2°C, 40±5% Relative Humidity).

The Powder Flow Analysis (PFA) module of TaXTPlus® (Stable Micro System, USA) and Freeman FT4 Rheometer (Freeman Technology, United Kingdom) were used in this study to determine the cohesion and flow energy of powder (Figure 1).



1. (A)



1 (B)

Figure 1. Principles of PFA (A) module of TaXTPlus® and FreemanFT4 Rheometer (B).

With PFA module, the cohesion index of powder was measured. In this test, 25 mL of powder was weighed and transferred to the 50 mL vessel (borosilicate glass), the 23 mm blade was used. Before any measurement, 2 conditioning cycles, that is to say a gentle displacement of powder, were made to remove the packing history and ensure the result reproducibility. The blade moves to the bottom of the powder column at 50mm/s with a path angle of 178 degrees. Cohesion data is recorded on the upward stroke with the blade remaining at a tip speed 50mm/s and path angle of 178 degrees. The negative area under the curve force – distance is the work required to move the blade through the powder column. A cohesion index is calculated by dividing this work (the upward part of the cycle) by the weight of the sample.

In the Freeman FT4 Rheometer, the axial force and torque acting on the blade were continually measured concomitantly with the distance. The flow energy was defined as the work measured when the blade displaces through the powder bed. The 160 mL vessel in borosilicate glass and 48 mm blade were used in the tests. In function of test programs, different parameters can be determined:

- In the dynamic test, the specific energy was calculated from the average energy of the upward traverses of conditioning cycles 6 and 7 then divided by the mass of the sample.
- In the permeability test, the air permeability of powder was assessed by mode airflow constant (2 mm/s). The pressure drop across the powder bed was continually measured when increasing the normal stress from 1 to 15 kPa.
- In the aeration test, the fluidization energies were measured at different airflow rates (2,4,6, 8 and 10 mm/s).

III. RESULTS AND DISCUSSION

Four lactoses from different suppliers with various particle size distributions (table 1) were used in this study in order to investigate a wide range of flow properties. They can be classified in two groups in function of the quantity of intrinsic fine particles and particle size: on one hand 2 batches of Lactohale LH200 for high concentration of intrinsic fines and smaller particle size, and on the other hand, Inhalac 230 and Respitose SV010 as low concentration of intrinsic fines and coarser particle size.

Table 1. Particle size distribution of the carriers (n=3, VMD=Volume Mean Diameter)

Carrier	Batch	VMD (μm)	dv.0.1 (μm)	dv0.5 (μm)	dv0.9 (μm)	% < 10.48 μm
Lactohale LH200 1	619651	57.94	4.72	48.70	125.87	17.75%
Lactohale LH200 2	634067	70.43	6.41	66.92	138.02	13.73%
Inhalac 230	0735A9118	80.39	27.42	79.41	134.41	5.98%
Respitose SV010	10354495	98.57	20.02	97.03	169.61	7.63%

The particle size and concentration in fine particles influence greatly the carrier's flow properties. There is no flow for the group with high intrinsic fines while the other carriers with coarser size and low fines flow easily (Table 2).

Table 2: Powder flow time, packing ability and angle of repose of carriers and their mixtures with TBS

	Powder Flow Time (s)		V10-V500 (mL)		Angle of repose (°)	
	Carrier	Mixture	Carrier	Mixture	Carrier	Mixture
Lactohale LH200 (1)	No Flow	No Flow	38.67	33.33	50.65	46.59
Lactohale LH200 (2)	No Flow	No Flow	39.67	27.33	44.87	41.74
Inhalac 230	4.27	7.3	17.00	12	31.20	32.56
Respitose SV010	3.83	3.67	11.67	10.67	28.86	33.04

The angle of repose and the difference between V at 10 taps and V at 500 taps fit well with the flow time of powder. Interestingly, mixing with micronized terbutaline sulphate seems to improve the flow and powder packing. This effect is more pronounced for the carriers with higher concentration of fine particles. It can be explained by the fact that the fine particles adhere onto the surface of carrier particles and act as a lubricant. This lubrication effect can be observed only in the bad flow powders. The addition of drug's micronized particles in the mixture decreases the free volume of the powder bed, as shown by the reduction of V10-V500 (table 2). On the other hand, it leads to a reduction of air permeability of the powder. This effect can be noted on the figure 3 where the time for air flow through the powder bed of carriers alone (blue square) is always lower than through the corresponding mixtures (red triangle). The fine particles of drug must be filled in the voids made by the arranging coarse carrier particles and thus they reduce the airflow across the bed.

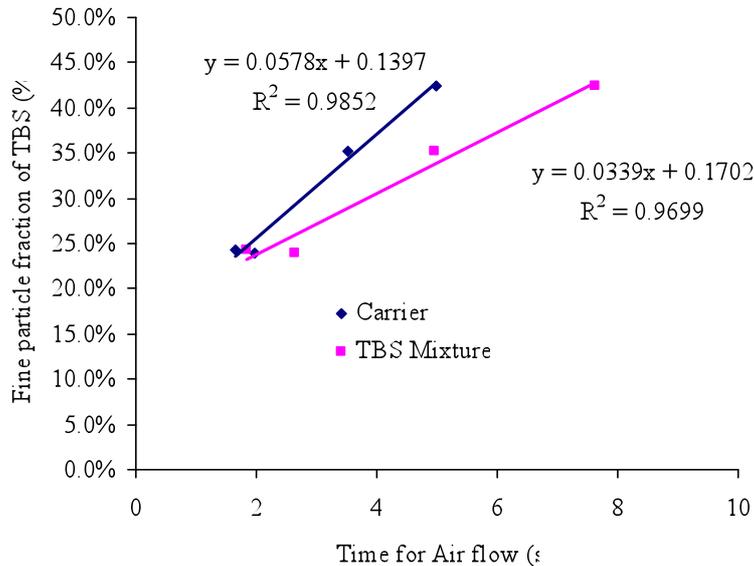


Figure 3. Relationship between the Air permeability (Carrier and Mixture) measured by Blaine apparatus and the Fine Particle Fraction of TBS Mixtures.

A good linear relationship between the time for airflow across the bed and fine particle fraction of terbutaline sulphate was stated (Figure 3). This relationship applies for air permeability of carrier with a correlation coefficient $R^2 = 0.9852$ and for the mixtures with $R^2 = 0.9699$. These results confirm the previous studies ^(6,7).

The investigation of air permeability by Freeman FT4 rheometer gives the same tendency than the results obtained by Blaine apparatus. Additionally, more information can be taken from this experience by the fact that increasing the normal stress reveals the powder structure (Figure 4). For the carrier having a high concentration of intrinsic fines (Lactohale 200), a brutal decrease in air permeability happened when increasing

the normal stress. Under the stress, the fine particles probably move and block in the inter-particle voids and small pathways despite high void volume (V10-V500). In the case of coarser particle size and low intrinsic fine content, despite a smaller void volume, the pathways and inter-particle voids are probably larger and remain intact under pressure. Thus, a deeper understanding on the powder structure can be probed.

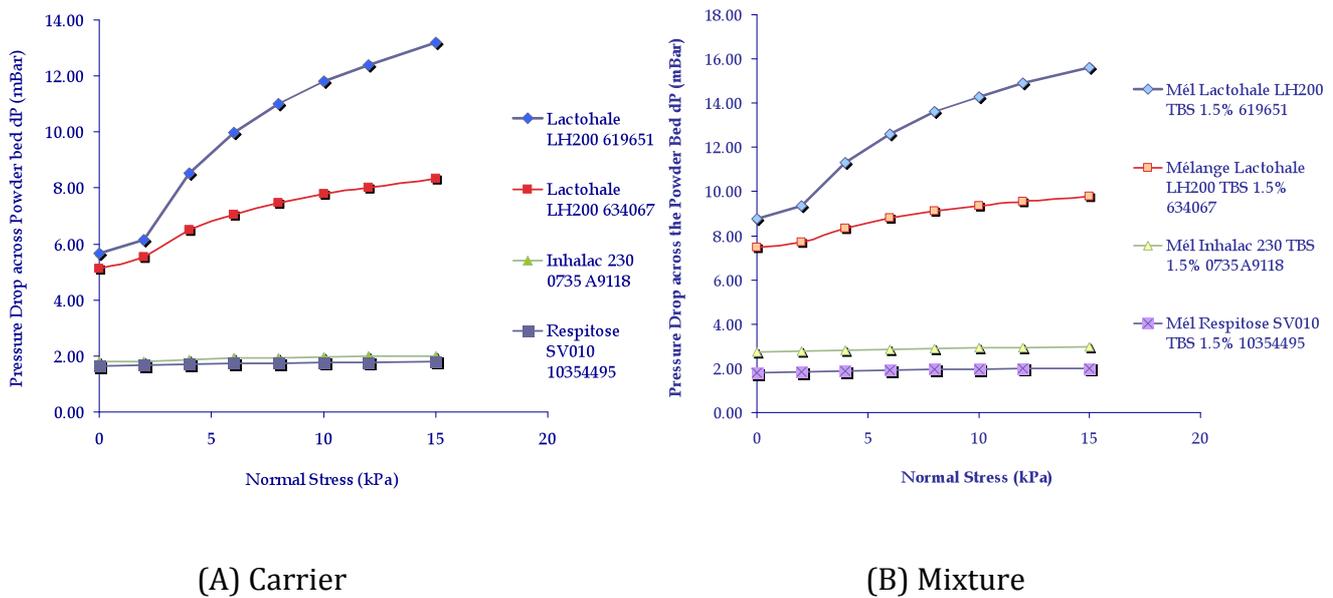


Figure 4. Air permeability measured by Rheometer FremanFT4.

The cohesion index measured by PFA can help to classify the cohesiveness of powder and then their flowability. In this study, higher intrinsic fine particle and smaller size lead to higher cohesion index (data not shown). The cohesion indexes of powders are linearly correlated with the specific energies measured by Freeman FT4 Rheometer, with a correlation coefficient $R^2 = 0.9185$ (Figure 5). In reality, the measurement principle of these two parameters is similar. The cohesion index is calculated from the work lifting powder when the blade upward traverses the powder bed. This work was

normalized with powder weight to avoid the weight effect in order to evaluate only the cohesion. The specific energy is also the measured energy when the blade upward traverses the powder bed. This energy is composed of two factors: force and torque on the blade. The nature of the measured parameters is the same. That explains why the absolute values for the 2 methods are different but they can both be used for evaluating cohesion of powder.

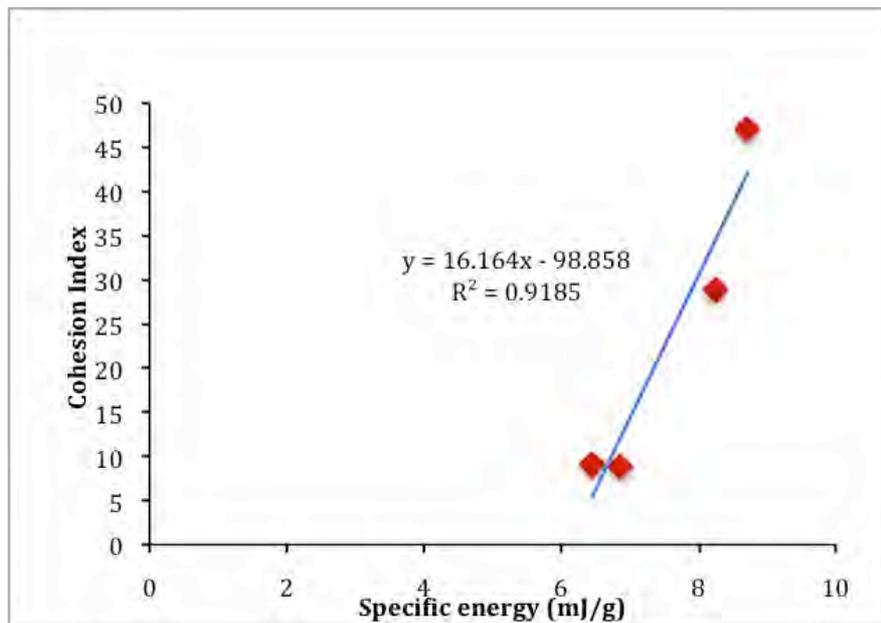
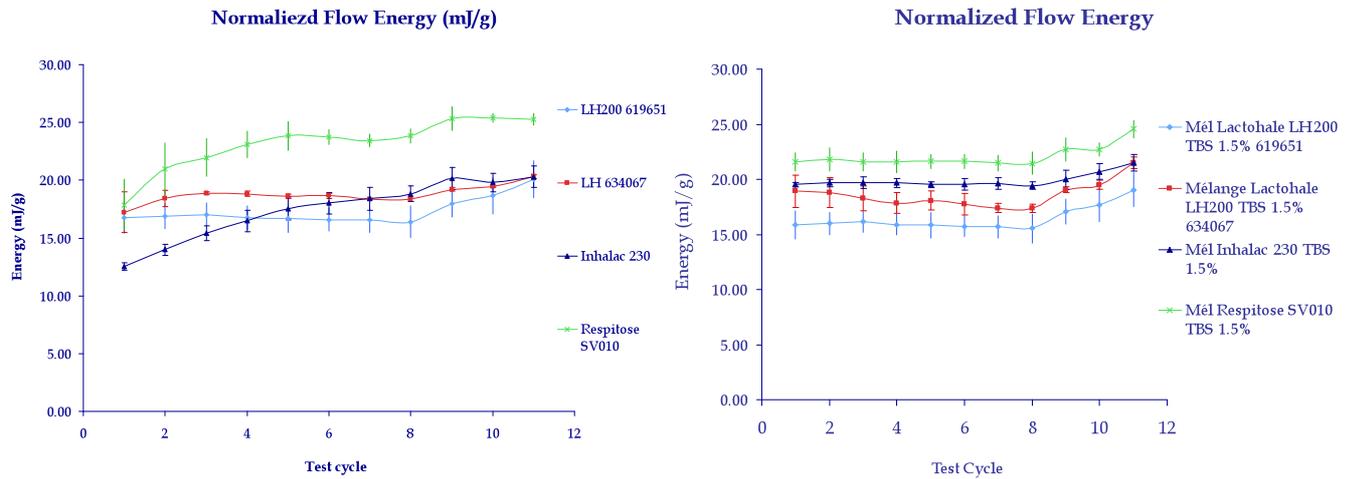


Figure 5. Relationship between the Cohesion Index (PFA) and the Specific energy (Freeman FT4 Rheometer).

In the dynamic test, repeating measurements of flow energy can be used to access the flow stability. The flow rate is constant during 8 tests and then decreases from test 8 to test 12. As it can be seen in the figure 6.A, the flow energy for the carriers with low intrinsic fines constantly increases when reiterating measurement cycles. Good flow stability was noted for the other group having coarser size and better flowability. Mixing with micronized drug has a stabilising effect on the flowability of cohesive powder

(Figure 6.B). For all powders, a reduction of external force acting on powder bed by means of a decrease in blade tip rate (tests 8 to 12) conducts to an increase in flow energy. This result indicates that for this type of mixture, an appropriated external mechanism can help the powder flow.



(A) Carriers

(B) Mixtures

Figure 6. Dynamic test of carriers and TBS mixtures

The relationship between the specific energy of mixture and the fine particle fraction was found to be linear ($R^2= 0.9558$) (Figure 7). In a study that investigated the fluidization of cohesive powder, the authors demonstrated that tensile strength of powder bed before fluidization was well linked with the powder cohesion ⁽⁸⁾. High tensile strength leads to higher aerodynamic drag forces. That could explain the improving effect of high specific energy of powder.

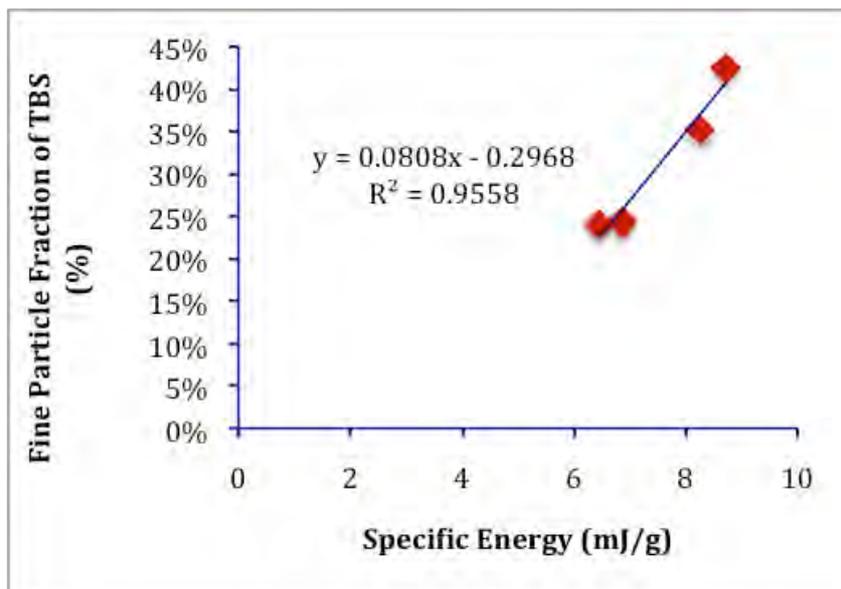
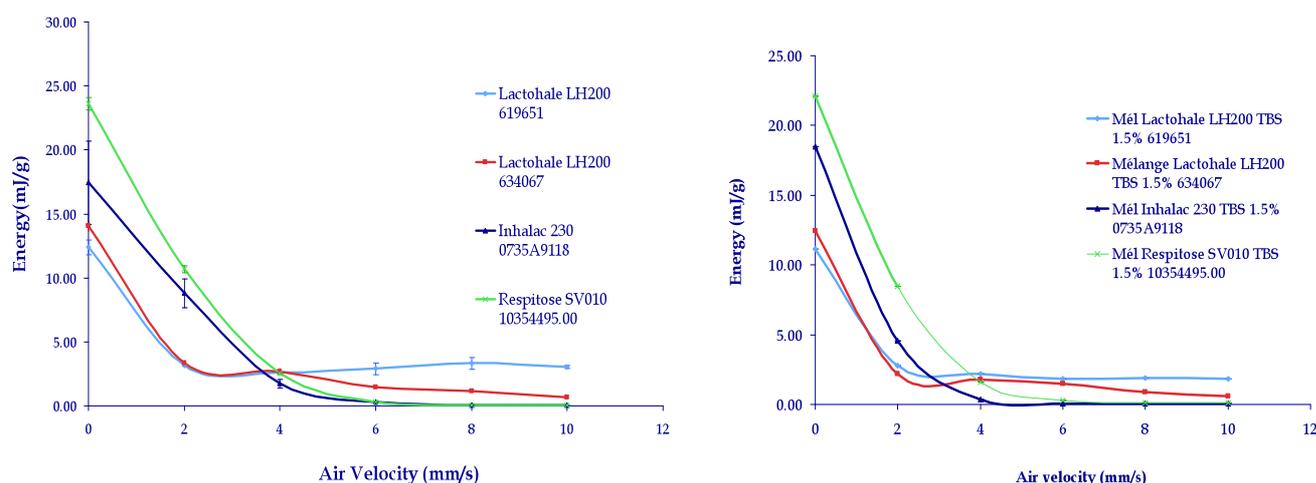


Figure 7. Relationship between Specific energy and Fine particle fraction

Studying the aeration properties of carrier and mixture shows the same behaviours. The flow energy profiles of mixture is similar to the profiles of carriers, even though a small reduction of energy can be stated (Figure 8). It suggests that the rheological properties of mixture are dominated by the ones of the carrier.



(A) Dynamic test of Carriers

(B) Dynamic Test of Mixtures

Figure 8. Aeration test of carriers and its TBS mixtures

The figure 8 shows that for high cohesive powders like the two batches of Lactohale LH200 and their mixtures, an increase in airflow through the powder bed cannot improve the separation of particles. The particles still remained in contact when airflow increased and the fluidization energy is still high. The fluidization energy measurement was used to quantify the powder fluidization in another study: A cohesive powder is fluidized in plug-like mode and a free flow powder is fluidized in continue mode ⁽⁹⁾. In the plug-like fluidization, the plugs of powder that are entrained by drag force, can easily impact on the obstacle in the airways. The dispersion by impaction was then enhanced.

Here, we plotted the fluidization energy versus the fine particle fraction of terbutaline sulphate (figure 9).

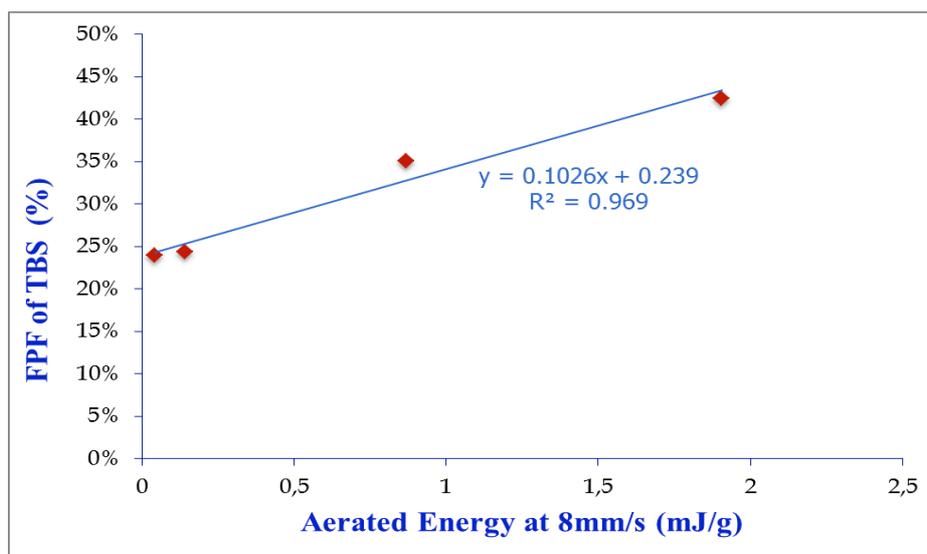


Figure 9. Aerated energy versus fine particle fraction of Terbutaline Sulphate

A good relationship between the fluidization energy (at 8mm/s) and the fine particle fraction was noted, with $R^2 = 0.969$. It supports the impaction tendency of cohesive powder.

IV. CONCLUSION

In this study, the rheological properties of carriers and their mixtures for inhalation were investigated by means of different available techniques. The results of bulk properties from conventional methods, such as study of angle of repose, bulk and tapped volume fit well with parameters measured by powder rheometers. It was stated that the rheological properties of mixtures are dominated by those of carrier due to its predominant quantity in the mixture. The drug fine particles act as a lubricant, which stabilises the powder flow. Investigation of powder structure and powder cohesion gives more understanding on the fluidization and aerodynamic dispersion. We shown that blends with higher specific energy, higher aerated energy and lower permeability are those with greater cohesion characterized by their greater cohesion index. And this leads to higher Fine Particle Fraction.

When interacting with airflow, a more impermeable and more cohesive powder has a greater tensile strength as the fluidization begins. The latter leads to the higher aerodynamic drag force and higher impaction once the powder is fluidized.

The choice of a carrier for DPI formulations should be made with the rheological properties considerations in order to obtain a good aerodynamic performance and good handling properties of the mixtures.

REFERENCES

1. Kassem NM, Ganderton D. Dry Powder Inhalers. In: *Advances in Pharmaceutical Sciences*. London: Academic Press; 1992. p. 165-191.
2. Price R. *Low and High Shear Blending*. Parma, Italy: 2010.
3. Cartilier LH, Moës AJ. Influence du type de lactose sur l'homogénéité de mélanges de poudres à principe actif cohésif et faiblement dosé. *S.T.P Pharma Sciences*. 1989;5(3):152-159.
4. Chaudhuri B, Mehrotra A, Muzzio FJ, Tomassone MS. Cohesive effects in powder mixing in a tumbling blender. *Powder Technology*. 2006 Jul 13;165(2):105-114.
5. Podczeck F, Newton JM. Powder filling into hard gelatine capsules on a tamp filling machine. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999 Aug 20;185(2):237-254.
6. Le VNP, Robins E, Flament MP. Air permeability of powder: A potential tool for Dry Powder Inhaler formulation development. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2010 Nov;76(3):464-469.
7. Shur J, Harris H, Jones MD, Kaerger JS, Price R. The Role of Fines in the Modification of the Fluidization and Dispersion Mechanism Within Dry Powder Inhaler Formulations. *Pharm Res*. 2008 Feb;25(7):1631-1640.
8. Valverde JM, Castellanos A. Types of gas fluidization of cohesive granular materials. *Phys. Rev. E*. 2007 Mar 26;75(3):031306.
9. Tuley R, Shrimpton J, Jones MD, Price R, Palmer M, Prime D. Experimental observations of dry powder inhaler dose fluidisation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008 Juin;358(1-2):238-247.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Mr Guiader (SwanTech, Paris) to loan a PFA module for TaXTPlus®. Our sincere thanks are expressed to Mme Professor N. Fatah of École Centrale de Lille, France for letting us use the FreemanFT4 Rheometer and for helping in result interpretation.

PARTIE D

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GÉNÉRALE

Depuis l'apparition d'inhalateurs à poudre sèche modernes dans le début des années 70s, le développement de formulations efficaces de poudre pour inhalation a fait des progrès considérables. La clé d'un tel succès est liée à de meilleures compréhensions de la technologie des poudres, de la science des matériaux, de la physiopathologie respiratoire et spécialement l'interaction entre les particules d'aérosol et l'arbre respiratoire. La distribution pulmonaire des récepteurs des principes actifs est localisée¹. L'influence de changements physiopathologiques de la voie respiratoire sur le dépôt des particules est également étudiée²⁻⁴. La science des matériaux fournit des outils modernes pour examiner l'interaction au niveau moléculaire et particulaire. Les avancées dans la technologie des poudres permettent de produire des particules ayant les propriétés physicochimiques désirées⁵. Cependant, le développement des mélanges de poudre pour inhalation reste encore un défi parce qu'il s'agit d'un système complexe mettant en jeu un processus de désagrégation des poudres méconnu. Cela conduit souvent à une faible dose de particules fines du principe actif qui arrive aux sites d'action dans les poumons. Il en résulte fréquemment une variation importante de la dose respirable (dose de particules fines). L'objectif d'une forme médicamenteuse optimale est de délivrer le principe actif dans l'organisme humain de façon à respecter les propriétés primordiales : efficacité, sécurité, stabilité et reproductibilité. Dans le cas des poudres pour inhalation, une formulation réussie consiste à délivrer une fraction de particules fines importante et reproductible du principe actif concerné, de minimiser les effets indésirables à cause du dépôt extra pulmonaire et de conserver la qualité tout au long de la vie du produit. Pour atteindre ces objectifs, il est crucial de connaître les propriétés physicochimiques de la poudre, aussi bien celles des matières premières que de leur mélange, comprendre leurs interactions lors de la production ainsi que l'interaction entre la poudre et le fluide d'air quand le patient l'inhale. Des outils adéquats de criblage et de prédiction des comportements de la poudre sont également nécessaires pour mieux contrôler le processus de développement galénique et de production⁶.

Dans cette thèse, nous avons étudié les facteurs influençant la qualité et la performance aérodynamique des mélanges pour inhalation. Le lactose est choisi comme transporteur

modèle car il est utilisé dans la plupart des formulations commercialisées. Les principes actifs utilisés dans ce travail sont le propionate de fluticasone, un glucocorticoïde ayant un caractère hydrophobe et le sulfate de terbutaline, un β_2 - sympathomimétique hydrophile. Ces deux principes actifs représentent de manière satisfaisante les composés souvent utilisés par voie inhalée. Les expériences ont été exécutées selon les étapes suivantes :

- Dans un premier temps, les facteurs à étudier, à savoir les conditions de mélange ou certaines propriétés physicochimiques, sont définis et quantifiés
- Puis, les mélanges de poudres sont réalisés et évalués par les méthodes prédéfinies et dans des conditions climatiques contrôlées.
- Enfin, des modèles physicochimiques sont proposés afin de mettre en relation les facteurs étudiés et la qualité des mélanges. Ces modèles sont établis à partir d'études récentes dans le domaine scientifique concerné.

Les résultats principaux de notre travail sont les suivants :

- L'optimisation des conditions de mélange pour inhalation est possible à l'aide d'une série d'expériences prenant en considération les facteurs suivants : la concentration de principe actif, le temps de mélange, la vitesse du mélangeur et une pause entre les séquences de mélange. Pour un principe actif donné, une durée suffisante de mélange doit être trouvée pour assurer l'homogénéité du mélange mais cette durée ne doit pas être trop longue de telle façon que l'adhésion du principe actif soit suffisamment faible pour qu'il soit libéré lors de l'inhalation du mélange. Une pause entre les séquences de mélange permet d'améliorer l'homogénéité et la stabilité du mélange en raison de la diminution de triboélectricité due à la friction entre les particules et contre les surfaces du mélangeur lors du mélange.
- Les conditions de conservation du mélange doivent être attentivement contrôlées. En effet, la performance aérodynamique du principe actif est réduite en présence d'une humidité relative importante étant donné que l'eau adsorbée renforce l'interaction particulaire.

- La taille du transporteur et surtout sa concentration en fines particules de lactose sont des facteurs déterminant la qualité et la performance du produit final. Une diminution de la taille moyenne du transporteur augmente la fraction de particules fines du principe actif. La présence de fines particules de lactose dans le transporteur augmente la fraction de particules fines du principe actif. Des mesures par iGC (chromatographie gazeuse inverse) montrent un accroissement de l'énergie de surface du transporteur en fonction de la concentration en fines particules de lactose. Les fines particules de lactose possèdent une énergie de surface importante et seraient la source d'interactions avec les particules de principe actif. Une énergie de surface du transporteur importante conduit à une amélioration de la fraction respirable. Les raisons possibles de ce phénomène seraient la formation d'agglomérats de type principe actif – lactose fin qui sont facilement dispersés dans l'air inspiré.
- À condition de bien choisir la distribution granulométrique, le polymorphe bêta lactose anhydre pourrait être utilisé comme transporteur. Des précautions doivent être prises lors de l'utilisation de bêta lactose anhydre car son hygroscopicité est supérieure à celle de l'alpha lactose monohydrate en présence d'une humidité relative importante. Le lactose amorphe doit être évité étant donné que sa stabilité est faible et que l'adhésion principe actif – transporteur est très importante dans le cas de particules amorphes. La quantité d'amorphe du lactose doit être attentivement contrôlée par des méthodes appropriées.
- Dans notre étude sur les propriétés du transporteur, nous avons développé une technique rapide permettant d'évaluer et prédire la qualité des mélanges. Il s'agit de la perméabilité du lit de poudre. Le principe de cette technique est basé sur la simulation du processus d'interaction de l'air avec la poudre. L'air passe facilement à travers un lit de poudre perméable. Dans le cas contraire, une réduction de perméabilité à l'air d'un lit de poudre conduit à une augmentation de sa résistance lors du passage d'un fluide. La force de traînée aérodynamique est ainsi amplifiée d'où une énergie de dispersion plus importante ⁷. La structure de la poudre pourrait être étudiée par sa perméabilité. Les fines particules de principe actif libres et non adhérentes se trouveraient dans les espaces interstitiels entre les grandes particules de transporteur ce qui diminue ainsi la perméabilité

du lit de poudre. Ce sont ces particules fines libres qui seraient facilement libérées lors de l'inhalation.

- Les propriétés cohésives d'un principe actif ont été examinées. En effet, du fait de procédés de fabrication différents, une variation importante de la qualité des lots de principe actif (propionate de fluticasone - FP) a été rapportée. Après mélange avec l'alpha lactose monohydrate, ces lots différents présentent des performances aérodynamiques variées. Nous avons employé différentes techniques de caractérisation des poudres, notamment l'analyse de la structure cristalline par la diffraction des rayons X et l'analyse thermique, la mesure de l'énergie de surface par iGC, la balance cohésive – adhésive par l'AFM (microscopie à force atomique), l'analyse granulométrique par diffraction laser en voie liquide et par la technique Spraytec®...Ces études aident à quantifier les différences entre les lots mais seule la technique Spraytec® permet de différencier le comportement cohésif des lots de FP. Une bonne corrélation entre le pourcentage de particules fines (<5,69 µm) du FP par la technique Spraytec et la fraction respirable des mélanges avec le Lactohale LH200 obtenue avec un impacteur a été observée. Cela laisse suggérer que les agglomérats de propionate de fluticasone dans les mélanges sont les facteurs limitant la dispersion aérodynamique des mélanges.
- Le phénomène d'agglomération des particules cohésives de FP dans les mélanges a ensuite été étudié. En utilisant la diffraction laser, nous avons développé une méthode permettant la mesure de la taille du FP dans son mélange avec différents lactoses. Les agglomérats de FP sont ainsi détectés et mesurés dans les mélanges. Leur taille est en relation avec la taille de pores inter-particulaires formés par les grandes particules de transporteur. Un nouveau procédé de mélange, basé sur le principe du broyage par billes, est étudié pour surpasser ce phénomène. Les résultats ont montré l'efficacité de dés-agglomération de ce procédé.
- Enfin, une étude sur les propriétés rhéologiques des transporteurs et des mélanges a été réalisée. Les outils employés sont soit ceux de la Pharmacopée Européenne comme l'angle de repos, l'aptitude au tassement..., soit des rhéomètres qui permettent de mesurer les forces et l'énergie mises en jeu lors de

l'écoulement de la poudre. Les résultats de ces méthodes sont raisonnablement corrélés bien que les rhéomètres attribuent plus d'informations sur la structure de la poudre et sur la dynamique lors du mouvement de la poudre. Les propriétés rhéologiques des transporteurs déterminent celles de leurs mélanges du fait de leur concentration prépondérante dans le mélange. Cependant, les particules fines de principe actif exercent une faible action lubrifiante dans les mélanges, surtout dans le cas de transporteurs cohésifs. L'énergie de fluidisation des mélanges plus cohésifs est plus importante et correspond à un régime de fluidisation en mode de paquets. Une augmentation importante de l'énergie de fluidisation entraîne une amélioration de la fraction respirable du mélange. Cela suggérerait que l'impaction est un mécanisme important lors de la dispersion aérodynamique.

En général, ce travail permet de mieux comprendre les propriétés physicochimiques importantes du transporteur et du principe actif et leur interaction. D'abord, les arguments de choix d'un transporteur doivent être minutieusement établis basés sur des données concernant sa taille, sa concentration en fines particules de lactose, sa teneur en amorphe, son hygroscopicité, sa perméabilité à l'air et ses propriétés rhéologiques. Un transporteur ayant une cohésion raisonnable et une faible perméabilité à l'air est souhaitable pour avoir une bonne performance aérodynamique. Ensuite, pour un principe actif cohésif, l'étude du comportement aérodynamique par la technique de Spraytec® permet le contrôle des variations de qualité dues au procédé de fabrication. Un procédé de mélange avec des forces de cisaillement importantes pourrait être employé pour mieux disperser les agglomérats de principe actif cohésif. Enfin, la perméabilité du lit de poudre s'avère un outil potentiel permettant le criblage préalable des transporteurs et des mélanges.

PERSPECTIVES

Pour approfondir les études sur la poudre pour inhalation, différentes expériences pourraient être envisagées. On peut citer :

- L'étude de la possibilité d'utiliser la méthode de mélange avec les billes pour diminuer la variation de qualité des mélanges due à la variation des lots de principe actif.
- L'étude sur la relation entre la distribution aérodynamique des particules fines lors de l'inhalation et la perméabilité de poudre. Cela permettrait d'approfondir et d'expliquer le mécanisme d'interaction de la poudre et de l'air.
- L'influence des conditions climatiques sur la structure de la poudre, évaluée par la perméabilité. La relation entre le changement de structure de la poudre et la performance serait envisagée.
- L'étude du mécanisme de fluidisation de la poudre en utilisant différents modes de fluidisation. Par exemple, la comparaison entre les mélanges fluidisés selon le mode paquet ou le mode continu avec des degrés différents d'impaction lors de l'inhalation permettrait de mieux comprendre le mécanisme de dispersion de la poudre.
- L'interaction des formulations avec les capsules est souvent oubliée dans les études de poudre pour inhalation. Il serait envisageable d'examiner la capacité de protection de la capsule sur la poudre et l'effet du mélange sur la capsule pour déterminer l'influence sur la performance du produit final.

RÉFÉRENCES

1. Barnes, P.J. Distribution of Receptor Targets in the Lung. *Proc Am Thorac Soc* **1**, 345-351 (2004).
2. Forbes, B. et al. Challenges in inhaled product development and opportunities for open innovation. *Advanced Drug Delivery Reviews* **63**, 69-87 (2011).
3. Lee, S.L. et al. In Vitro Considerations to Support Bioequivalence of Locally Acting Drugs in Dry Powder Inhalers for Lung Diseases. *AAPS J* **11**, 414-423 (2009).
4. Roche, N., Dessanges, J.F. & Dubus, J.-C. Les poudres sèches dans les situations cliniques extrêmes. *Revue des Maladies Respiratoires* **22**, 605-613 (2005).
5. Weers, J.G. et al. Pulmonary Formulations: What Remains to be Done? *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery* **23**, S-5-S-23 (2010).
6. Xu, Z., Mansour, H.M. & Hickey, A.J. Particle Interactions in Dry Powder Inhaler Unit Processes: A Review. *J Adhes Sci Technol* **25**, 451-482 (2011).
7. Shur, J., Harris, H., Jones, M.D., Kaerger, J.S. & Price, R. The Role of Fines in the Modification of the Fluidization and Dispersion Mechanism Within Dry Powder Inhaler Formulations. *Pharm Res* **25**, 1631-1640 (2008).