

## ETUDE THERMOANALYTIQUE DE L'ASPARTAM®

A. CHAUVET, H. DE SAINT-JULIEN, G. DE MAURY et J. MASSE

*Laboratoire de Chimie Générale et Minérale, U E R des Sciences Pharmaceutiques, 34060 Montpellier (France)*

(Reçu le 7 juin 1983)

### ABSTRACT

The thermal decomposition of aspartam has been studied by thermogravimetry (a), thermomicroscopy (b), differential scanning calorimetry (c) and transparency measurements (d). The temperatures and kinetics of desolvation and decomposition have been determined (a). The first decomposition step is due to the loss of  $-OCH_3$  with formation of DKP; this result was confirmed by NMR spectroscopy. The loss of methanol, the crystallization and fusion of DKP were observed (b,d). The sum of the enthalpies of decomposition of aspartam and the crystallization of DKP has been evaluated (c) as  $36.51 \pm 1.91 \text{ kJ mole}^{-1}$ .

### RESUME

La décomposition thermique de l'aspartam a été étudiée par thermogravimétrie (a), thermomicroscopie (b), analyse calorimétrique différentielle (c) et mesure de la transparence (d). Les températures et cinétique de désolvatation et décomposition ont été déterminées (a). Le premier stade de décomposition est dû au départ de  $-OCH_3$  avec formation de DCP; ce résultat a été confirmé par spectroscopie RMN. Le départ de méthanol, la cristallisation et la fusion de la DCP ont été observés (b,d). La somme des enthalpies de décomposition de l'aspartam et de cristallisation de la DCP a été évaluée (c)  $36,51 \pm 1,91 \text{ kJ mole}^{-1}$ .

### INTRODUCTION

Nous rapportons présentement les résultats de l'étude thermoanalytique de l'aspartam, ester méthylique de la L-aspartyl L-phénylalanine; ce dipeptide est formé par association de deux amino-acides naturels l'acide L-aspartique et la phénylalanine. Parmi les édulcorants non calorigènes l'aspartam occupe une place privilégiée. L'aspartam possède un pouvoir édulcorant 180–200 fois supérieur à celui du saccharose [1] sans goût amer ni métallique; son pouvoir calorique est très faible, sa tolérance bonne et son innocuité parfaite [2]. Il n'a pas d'action propre sur le tractus digestif, le système cardiovasculaire ni sur le système nerveux central. La glycémie et l'insulinémie ne sont pas modifiées; il ne présente aucun pouvoir mutagène, carcinogène ni tératogène.

Il tend à supplanter d'autres édulcorants, saccharine et cyclamate qui présentent, outre un goût amer et métallique, des effets cancérigènes et tératogènes [1,2]. L'aspartam connaît une très grande diffusion soit par nécessité médicale, diabète, obésité, soit par souci d'hygiène alimentaire. Entrant dans la confection de nombreux aliments sucrés boissons chaudes ou froides, desserts, crèmes, pâtes et sirops l'aspartam est ainsi fort utilisé [3]. De plus la connaissance du comportement thermique revêt un intérêt tout particulier.

Nous avons mis en oeuvre les méthodes thermoanalytiques: thermogravimétrie, thermomicroscopie, analyse calorimétrique différentielle, mesure de la transparence. Ces méthodes ont été appliquées antérieurement à des médicaments chimiques [4-8]; elles conduisent à établir une fiche d'identité d'une substance chimique.

## PARTIE EXPERIMENTALE

Nous avons utilisé l'analyseur thermique différentiel Du Pont de Nemours 990 avec le module pour analyse calorimétrique différentielle dont le principe a été décrit par Baxter [9] et le module 951 pour analyse thermogravimétrique [4].

L'examen thermomicroscopique est effectué à l'aide du microscope Leitz SM Pol et de la platine chauffante Mettler FP 52 à chauffage et refroidissement programmés par l'appareil de commande FP 5.

L'appareil Mettler à détermination automatique de la fusion est composé du four FP 51, du programmeur FP 52 et de l'enregistreur GA 11. Son principe repose sur la mesure, à l'aide d'une cellule photoélectrique, de la transparence résultant du changement de phase solide  $\rightleftharpoons$  liquide lors de la fusion d'une substance. Nous rappellerons les travaux de Vergnon et Drevon [10,11].

### *Conditions opératoires*

En thermogravimétrie, les prises d'essai de 5-10 mg sont soumises à une vitesse de chauffage de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , sous courant d'azote, la sensibilité étant de  $1 \text{ mg pouce}^{-1}$ , pour la courbe thermogravimétrique (TG) et  $0,2 \text{ mg pouce}^{-1}$  pour la courbe thermogravimétrique dérivée (TGD).

L'analyse calorimétrique différentielle est réalisée avec des prises d'essai de l'ordre du mg pesées dans des capsules ordinaires, la vitesse de chauffage choisie étant de  $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , la sensibilité  $0,836 \text{ mJ pouce}^{-1}$ . Les enthalpies de fusion sont déterminées dans les conditions suivantes: prises d'essai 2,20-2,50 mg, vitesse de chauffage  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ; température de départ  $170^{\circ}\text{C}$ ; base de temps  $0,2 \text{ min pouce}^{-1}$ ; sensibilité  $2,01 \text{ mJ pouce}^{-1}$ .

La température et la cinétique de fusion sont déterminées à l'aide de

l'appareil Mettler en utilisant des tubes capillaires; le tassement du composé préalablement trituré au mortier d'agate se fait par trois chutes à l'intérieur d'un tube de verre de 60 cm de long.

Les températures de fusion sont lues par affichage direct (A) et déterminées à partir de la courbe de fusion (B) pour une vitesse de chauffage de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , le chauffage débutant à une température inférieure de  $10^{\circ}\text{C}$  à celle de la fusion. Cinq manipulations sont effectuées l'écart-type sur la moyenne est évalué, le seuil de probabilité étant choisi égal à 0,05.

### Réactif

L'aspartam  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{N}_2$ , de poids moléculaire 294,31, présente l'aspect d'une poudre blanche cristalline. La transformation de l'aspartam en solution aqueuse se manifeste par l'hydrolyse de la liaison méthylester du composé carbonyle avec formation d'aspartylphénylalanine puis cyclisation en acide 3-benzyl-2,5-pipérazinedione-6-acétique appelée dicétopipérazine [2].

## RESULTATS

### Examen thermogravimétrique

Les courbes TG et TGD ont été réalisées sur des prises d'essai de l'ordre de 8 mg. Nous rapportons (Fig 1 et Tableau 1) les résultats relatifs à une

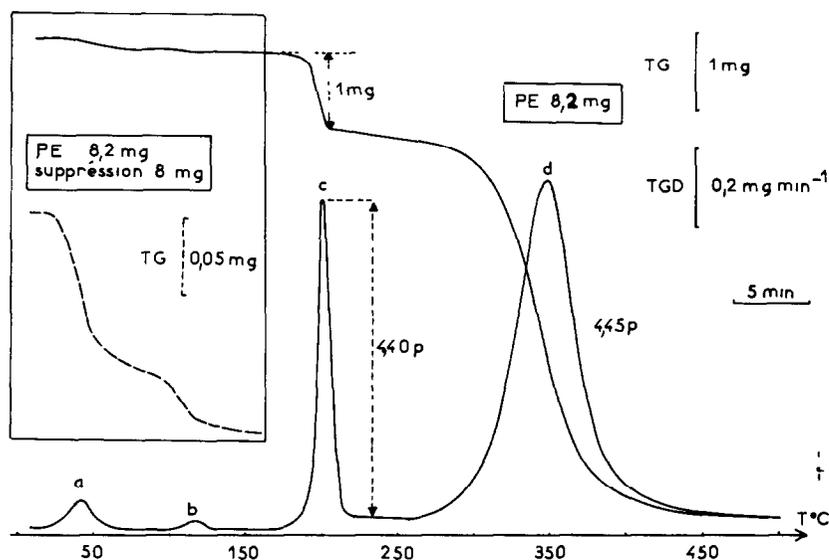


Fig 1 Courbes thermogravimétrique (TG) et thermogravimétrique dérivée (TGD)

TABLEAU 1

Résultats de l'examen thermogravimétrique (PE 8,20 mg)

	Stades	Temp de perte de poids (°C)		Perte de poids (mg %)	Vitesse de perte de poids (mg min <sup>-1</sup> )
		Début	Fin		
Désolvatation	I	40	75	1,77	0,09
	II	75	125		0,04
Décomposition	I	170	200	12,20	0,86
	II	250	450		0,92

manipulation effectuée sur 8,20 mg d'aspartam.

Les pertes de poids très faibles (1,77%) entre 40 et 125°C sont attribuées à un départ de solvant décelé par thermomicroscopie. Elles sont évaluées avec précision en utilisant la technique de la suppression qui revient à effectuer la mesure sur une très faible partie (0,20 mg) du poids initial 8,20 mg (Fig. 1 encadré), pleine échelle.

Entre 170 et 450°C apparaissent deux stades attribués à la décomposition; nous avons identifié le produit formé à la fin du premier stade (200°C) par spectroscopie RMN.

Le spectre obtenu par chauffage de l'aspartam jusqu'à 200°C ne met pas en évidence la présence du groupement méthoxy observé pour l'aspartam (Figs. 2 et 3).

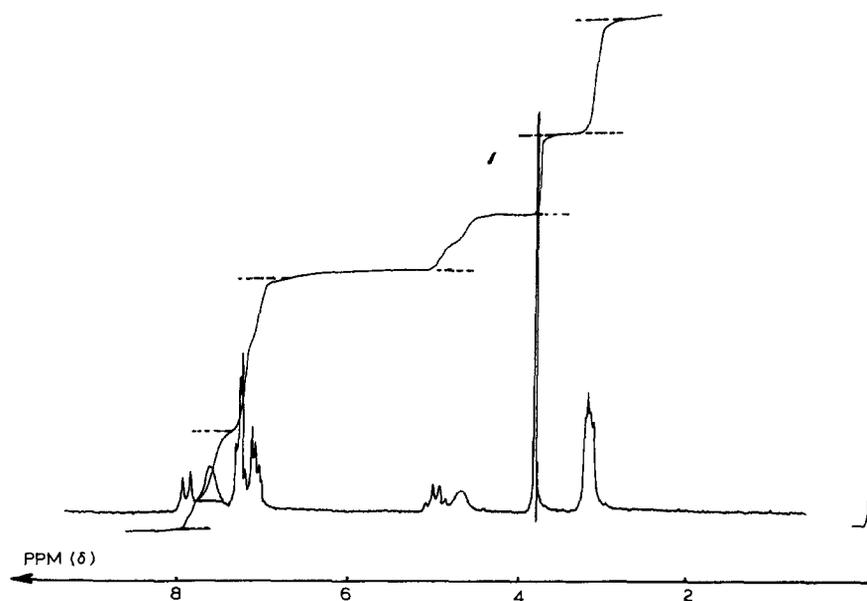


Fig 2. Spectre RMN de l'aspartam 3-3,3: groupement  $\text{CH}_3\text{CO}$ , 3,8 groupement  $-\text{OCH}_3$ , 7,5-8 attribué à  $\text{NH}_3$ , 7-7,5 attribué à  $\text{C}_6\text{H}_5$

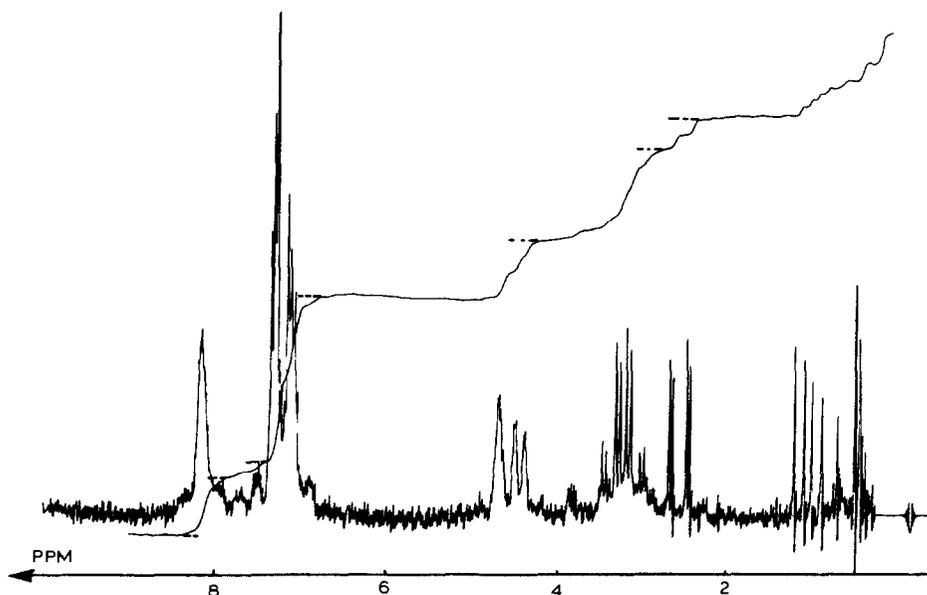


Fig 3 Spectre RMN de produit de décomposition (1er stade). Absence du pic à 3,8, 8,3 attribué à  $\text{NH}_2$ . La cyclisation est confirmée par l'augmentation des valeurs obtenues pour le couplage

Par ailleurs disposant d'un échantillon d'acide 3- benzyl-2,5 -pipérazine dione -6- acétique (DCP) nous avons comparé les courbes thermogravimétriques de l'aspartam et de la DCP en utilisant une prise d'essai de 7,20 mg de DCP (correspondant à la quantité théorique de DCP formée à partir de 8,20 mg d'aspartam).

La courbe thermogravimétrique de la DCP présente un seul stade de décomposition débutant à  $250^\circ\text{C}$  et finissant à  $450^\circ\text{C}$ , la cinétique de décomposition étant de  $0,92 \text{ mg min}^{-1}$ . Il est identique au deuxième stade de décomposition de l'aspartam.

En conclusion, au cours du traitement thermique, l'aspartam perd le groupement méthoxy en formant l'acide 3-benzyl-2,5-pipérazinedione-6-acétique (dicétopipérazine).

#### *Examen thermomicroscopique*

Quelques dixièmes de mg de l'échantillon considéré placés entre lame et lamelle sont examinés au microscope. A la température ambiante la substance apparait en lumière normale en petits amas autour desquels sont observés de fins filaments; en lumière polarisée il n'apparait pas de cristaux colorés.

L'échantillon ainsi préparé est ensuite chauffé à la vitesse de  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ . Au voisinage de  $184^\circ\text{C}$ , la substance initiale se transforme en fines aiguilles

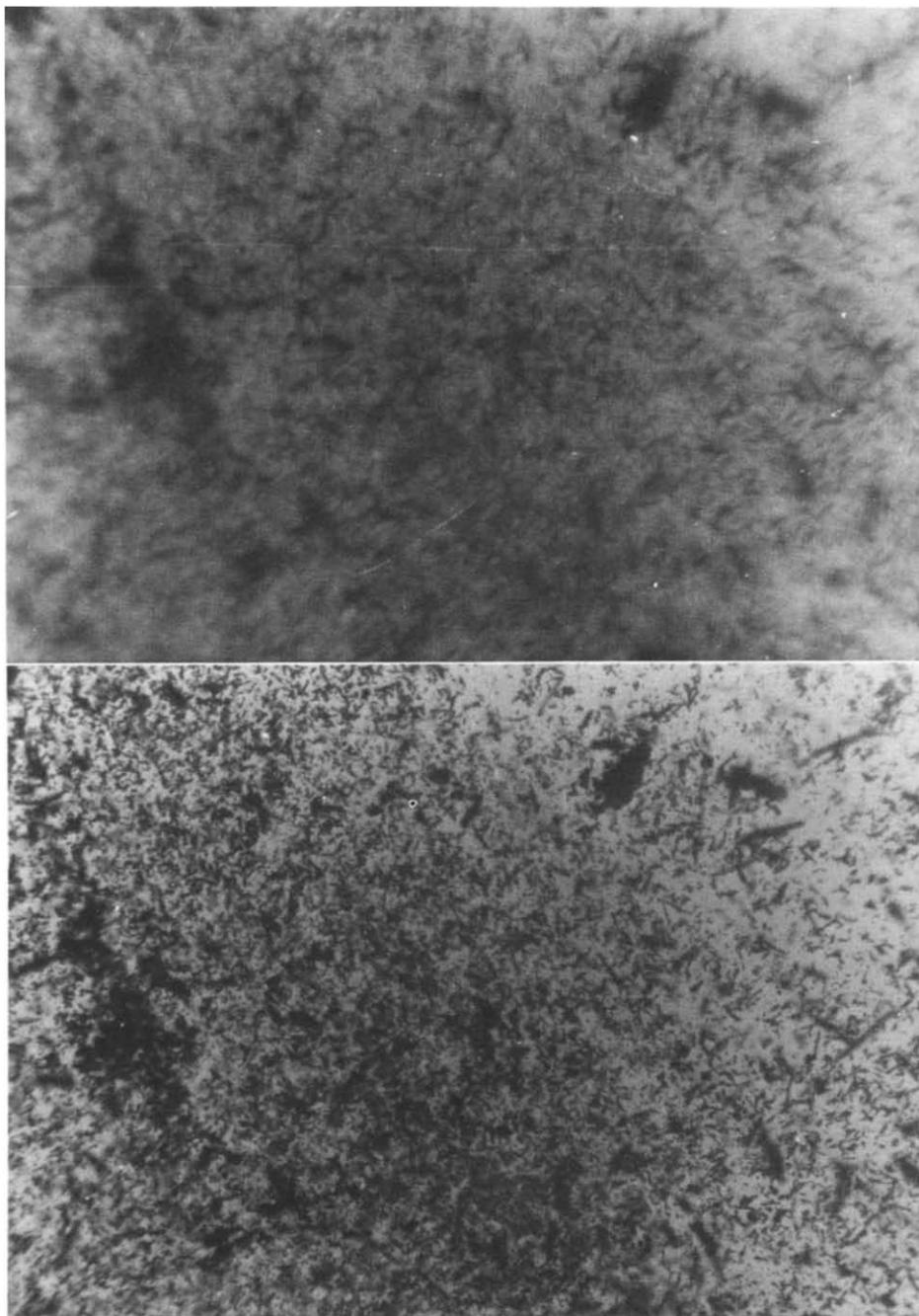


Fig. 4 (a) Aspartam avant 180°C (b) Dans le même champ du microscope à 185°C, recrystallisation de la dicétopérazine

(Fig. 4) qui, en lumière polarisée, apparaissent en blanc sur fond noir. Elles envahissent toute la préparation et fondent à 245°C.

Si l'on soumet la substance fondue à des cycles chauffage-refroidissement, cette dernière recristallise dans les conditions suivantes:

par refroidissement à la vitesse de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$  recristallisation à 140°C;

par refroidissement rapide en dehors de la platine chauffante recristallisation vers 150°C.

Quelles que soient les conditions de recristallisation, les cristaux formés fondent à la température de 245°C pour une vitesse de chauffage de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

Le montage d'une préparation entre lame et lamelle entourée d'un gel de silicone permet de visualiser le départ de solvant; à la vitesse de chauffage de  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ , des bulles de solvant commencent à apparaître dès 50°C puis vers 80°C. Le phénomène faible dans ce domaine de température s'accélère considérablement vers 188°C.

Les résultats de l'examen thermomicroscopique confirment ceux de l'examen thermogravimétrique avec désolvatation en trois stades, le dernier étant consécutif à une décomposition.

En conclusion la fusion observée correspond à celle du produit de décomposition, la dicétopipérazine (DCP), si l'on se réfère à la courbe thermogravimétrique et aux spectres de résonance magnétique nucléaire.

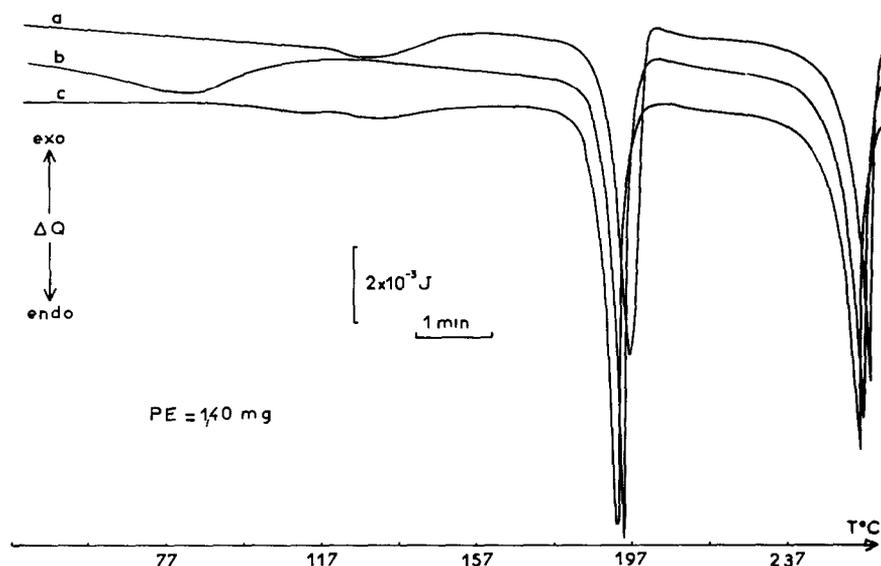


Fig 5 Courbes d'analyse calorimétrique différentielle. (a) Manipulation réalisée en capsule ouverte; (b) manipulation effectuée avec un couvercle posé sur la capsule, (c) manipulation en capsule sertie

## Analyse calorimétrique différentielle

### Etude qualitative

L'échantillon commercial d'aspartam considéré étant faiblement solvato (résultats de l'analyse thermogravimétrique et de l'examen thermomicroscopique) nous avons choisi des conditions expérimentales susceptibles de révéler ce départ de solvant: capsules ouvertes ou avec un couvercle posé ou serti.

Selon les conditions opératoires, les courbes d'analyse calorimétrique différentielle (ACD) présentent un tracé différent (Fig. 5). Les températures auxquelles apparaissent les phénomènes énergétiques visualisés par des pics endothermiques et exothermiques, en fonction de la présence ou non d'un couvercle posé sur la capsule ou serti, sont consignées ci-dessous:

	Temps. (°C)			
	Pics endothermiques		Pics exothermiques	
Capsule ouverte (Fig. 5a)	133	189	254	203
Capsule avec couvercle posé (Fig. 5b)	88	133	189	253
Capsule serti (Fig. 5c)	115	135	191	252

Le pic exothermique correspond à la recristallisation du produit de décomposition observée par thermomicroscopie. Le départ du méthanol s'effectue aisément dans le cas des échantillons placés dans des capsules non serties; il correspond au pic endothermique apparaissant à 189 ou 191°C.

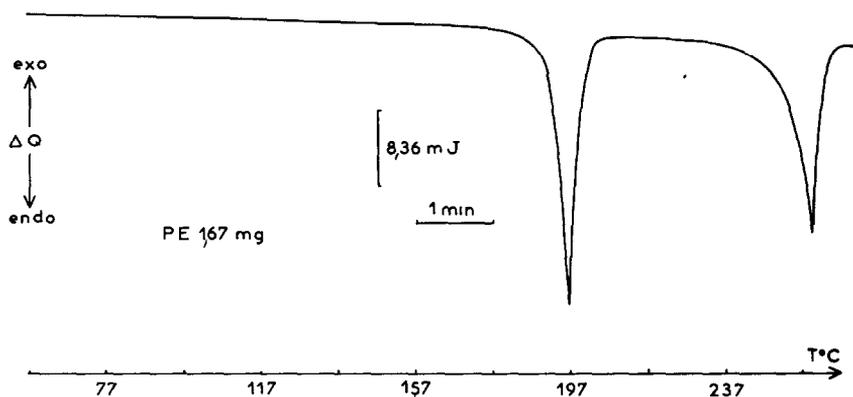


Fig. 6. Courbe d'analyse calorimétrique différentielle après trempe de la prise d'essai maintenue préalablement 5 min à 140°C

Après le départ du méthanol, selon les conditions opératoires (capsule ouverte ou avec couvercle posé), un pic exothermique est décelé à 203°C; il correspond très vraisemblablement à la recristallisation du produit de décomposition précédemment observée par thermomicroscopie.

L'acide dicétopipérazine ainsi formé présente un pic endothermique au voisinage de 253°C, température de fusion visualisée par thermomicroscopie. Le non retour à la ligne de base du pic de fusion indique la décomposition du produit (DCP) résultat en accord avec ceux de l'examen thermogravimétrique (Tableau 1).

Les modifications de la température et du tracé des courbes relatives aux phénomènes énergétiques se produisant entre 40 et 135°C confirment le départ de solvant évalué par thermogravimétrie et observé par thermomicroscopie.

Nous avons maintenu une prise d'essai, de l'ordre du mg à 140°C, pendant 5 min dans le four de l'analyseur calorimétrique différentiel; l'échantillon étant refroidi et chauffé, à partir de la température ambiante, la courbe ACD obtenue ne présente plus les pics endothermiques correspondant à la déshydratation de l'aspartam; seuls sont décelés les accidents endothermiques se produisant à 189°C et 251°C, décomposition de l'aspartam en dicétopipérazine et fusion suivie de la décomposition de ce dernier (Fig. 6).

Quelques mg d'aspartam sont soumis à l'analyse thermogravimétrique jusqu'à 200°C; une fraction du produit ainsi traité est étudiée par analyse calorimétrique différentielle: la courbe ACD présente un seul pic endothermique à 253°C (Fig. 7).

La courbe d'analyse calorimétrique différentielle de l'acide dicétopipérazine, produit de référence, fournit un seul pic endothermique à 262°C la fusion, suivie d'une décomposition. La différence de température

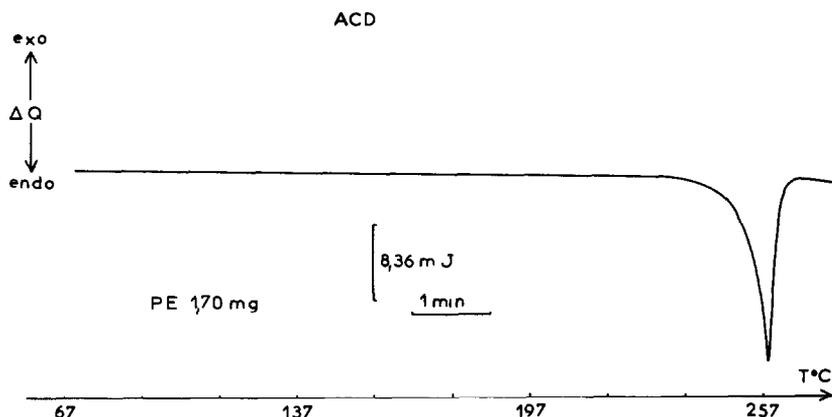


Fig 7 Courbe d'analyse calorimétrique différentielle du produit de décomposition thermogravimétrique de l'aspartam porté à 200°C.

de fusion 252°C (DCP provenant de la décomposition de l'aspartam) et 262°C (DCP de référence) peut s'expliquer par la présence d'impureté dans le produit de décomposition thermique de l'aspartam; ce dernier est légèrement jaune tandis que le produit de référence est blanc.

*Détermination de l'enthalpie de transformation de l'aspartam en acide dicétopipérazine*

La transformation de l'aspartam en acide dicétopipérazine résulte du départ de méthanol et d'eau, et de la cristallisation du produit formé (DCP). Dans certaines conditions expérimentales il a été possible de mettre en évidence la présence d'un phénomène exothermique. En utilisant des capsules serties le phénomène exothermique n'apparaît pas, il est masqué par le phénomène endothermique; par suite la somme algébrique des deux réactions est décelée et l'enthalpie résultante peut être mesurée.

Nous avons retenu les conditions expérimentales précédemment décrites. Nous avons utilisé l'indium comme substance de référence d'enthalpie de fusion connue dans les conditions opératoires décrites, la prise d'essai étant de 2,63 mg, l'intégration de la courbe de fusion ramenée en poids étant de 187,4 mg. L'enthalpie de fusion, en Joules, d'un milligramme d'indium est 28,38 J.

Nous rapportons, à titre d'exemple, les résultats relatifs à une prise d'essai de 2,26 mg d'aspartam, l'intégration de la courbe de transformation étant de 726 mg. L'enthalpie de transformation rapportée à la molécule d'aspartam (poids moléculaire 294,31) est donnée par la relation

$$\left( \frac{28,38 \times 2,63}{187,4} \right) \times \left( \frac{726 \times 294,31}{2,26} \right) = 37\,658 \text{ J mole}^{-1}$$

soit 37,66 kJ mole<sup>-1</sup>.

Nous avons consigné dans le Tableau 2 des résultats relatifs à cinq manipulations.

L'enthalpie de transformation de l'aspartam en dicétopipérazine peut

TABLEAU 2

Enthalpie résultant de la décomposition de l'aspartam et de la formation de la DCP

$\Delta H_t$ (kJ mole <sup>-1</sup> )	$ \Delta H_t - \Delta \bar{H}_t $ $\times 10^2$	$(\Delta H_t - \Delta \bar{H}_t)^2$ $\times 10^4$
35,21	130	16900
37,66	115	13225
38,31	180	32400
34,72	179	32041
36,68	17	289
36,51 ± 1,91 kJ mole <sup>-1</sup>		

permettre une évaluation quantitative de l'aspartam en présence du produit de dégradation. El-Shattawy et al. [12,13] prennent en compte des modifications éventuelles de cette enthalpie pour connaître l'influence d'excipients sur la stabilité thermique de l'aspartam. Par ailleurs ces auteurs indiquent l'absence de fusion au cours du traitement thermique de l'aspartam par analyse calorimétrique différentielle. Cette méthode ne peut, seule, suffire pour affirmer l'absence ou la présence d'une fusion, il est indispensable de faire appel à des méthodes complémentaires: la thermomicroscopie qui permet la visualisation des changements de phase et la mesure de la transparence qui est spécifique de la fusion ou de la recristallisation.

### *Mesure de la transparence*

Cette méthode ne peut apporter que des renseignements relatifs à la fusion du produit de décomposition, l'acide dicétopipérazine. En conséquence, afin d'obtenir une décomposition aussi complète que possible de l'aspartam, nous avons porté le tube capillaire avec la substance pendant 3 min à 189°C; nous avons soumis, une nouvelle fois, le tube à trois chutes à l'intérieur du cylindre de verre, de façon à obtenir un tassement du produit après le départ du solvant. Nous rapportons les valeurs obtenues par mesure directe et après maintien à 185°C (Tableau 3). Nous avons effectué dans les deux cas cinq manipulations; l'écart-type sur la moyenne est évalué, le seuil de probabilité étant choisi égal à 0,05.

Les valeurs moyennes des intervalles de fusion diffèrent selon les conditions opératoires; un intervalle de fusion faible eu égard à la vitesse de chauffage caractérise le comportement du produit de décomposition après traitement thermique à 185°C. En conséquence en maintenant l'aspartam à 185°C, et en effectuant un nouveau tassement l'acide dicétopipérazine obtenu présente un intervalle de fusion de  $5,10 \pm 0,57$  et une température de fusion de  $251,26 \pm 1,06^\circ\text{C}$  (Fig. 8).

Si l'on considère les valeurs des intervalles de confiance, le traitement à 185°C semble devoir être recommandé pour évaluer les températures et

TABLEAU 3

Températures et intervalles de fusion

Vitesse de chauffage:  $10^\circ\text{C min}^{-1}$ . Température de départ inférieure de  $10^\circ\text{C}$  à celle de la fusion A, températures de fusion lues par affichage, B, déterminées à partir de l'enregistrement de la courbe de fusion

	A	B	Intervalles de fusion
Echantillon initial	$246,14 \pm 1,28$	$246,32 \pm 1,44$	$8,68 \pm 1,27$
Echantillon après traitement thermique à $185^\circ\text{C}$	$251,26 \pm 1,06$	$250,42 \pm 0,86$	$5,10 \pm 0,57$

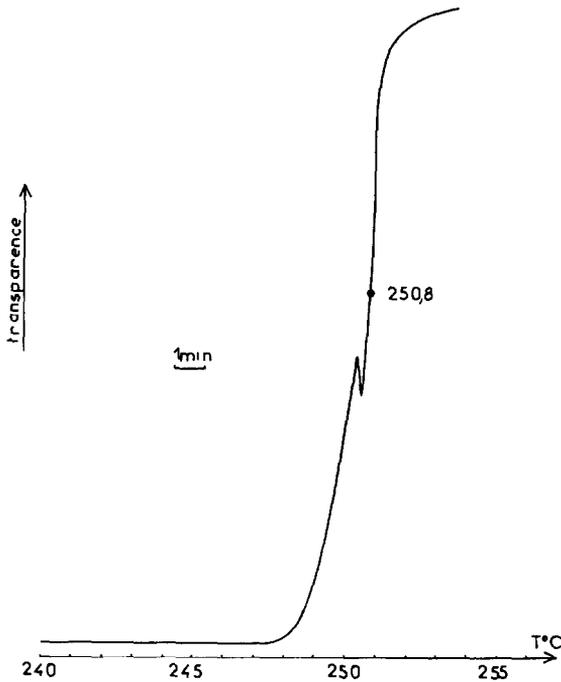


Fig 8 Courbe d'enregistrement de la modification de la transparence en fonction de la température

intervalles de fusion. De plus, compte tenu de la température de début de décomposition de l'acide dicétopipérazine, la vitesse de chauffage ne peut être inférieure à  $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . En conclusion la température de fusion observée correspond à celle du produit de décomposition thermique de l'aspartam.

## CONCLUSION

Par leur complémentarité les méthodes thermoanalytiques mises en jeu, thermogravimétrie, thermomicroscopie, analyse calorimétrique différentielle et mesure de la transparence permettent de connaître la stabilité thermique de l'aspartam et contribuent à son identification. Le domaine de stabilité thermique est précisé. La fusion observée par thermomicroscopie et mesure de la transparence correspond à celle de la dicétopipérazine et en aucun cas à celle de l'aspartam. L'étude du comportement thermique de l'aspartam, édulcorant de grande diffusion est particulièrement intéressante étant donné son utilisation à des températures relativement élevées.

## REMERCIEMENTS

Nous exprimons nos remerciements au Laboratoire Searle et au Centre de Recherche Clin-Midy pour nous avoir procuré l'échantillon étudié.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1 J. Jeanbrun, *Pathol. Thérapeut*, (1982) 46.
- 2 A. Jolivet, *Lyon Pharm.*, 31 (1980) 303.
- 3 H. De Saint-Julien, *Thèse Exercice en Pharmacie*, Montpellier, 1983
- 4 A. Chauvet, R. Perrier et J. Masse, *Thermochim. Acta*, 43 (1981) 161
- 5 A. Chauvet et J. Masse, *Trav. Soc. Pharm. Montpellier*, 38 (1978) 31
- 6 A. Chauvet, S. Rubio et J. Masse, *Thermochim Acta*, 57 (1982) 173
- 7 J. Masse, R. Malaviolle et A. Chauvet, *J. Therm. Anal.*, 16 (1979) 341.
- 8 R. Perrier, A. Chauvet et J. Masse, *Thermochim Acta*, 44 (1981) 189
- 9 R.A. Baxter, *Thermal Analysis*, Vol 1, Academic Press, New York, 1969, p. 65
- 10 P. Vergnon et B. Drevon, *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon*, 12 (1968) 83
- 11 P. Vergnon et B. Drevon, *Lyon Pharm.*, 25 (1974) 541.
- 12 H.H. El-Shattawy, G.E. Peck et D.O. Kildsig, *Drug Dev Ind Pharm.*, 7 (1981) 605
- 13 H.H. El-Shattawy, D.O. Kildsig et G.E. Peck, *Drug Dev Ind Pharm*, 8 (1982) 429