



**Développement de méthodes homogènes  
à l'usage des laboratoires de contrôle  
Dermo-cosmétiques, et apport de l'HPTLC.**

**Centre de Recherche & Développement  
Pierre Fabre Dermo-Cosmétique  
Vigoulet-Auzil**

Stéphane CHAPPERT – Henri JAMMES

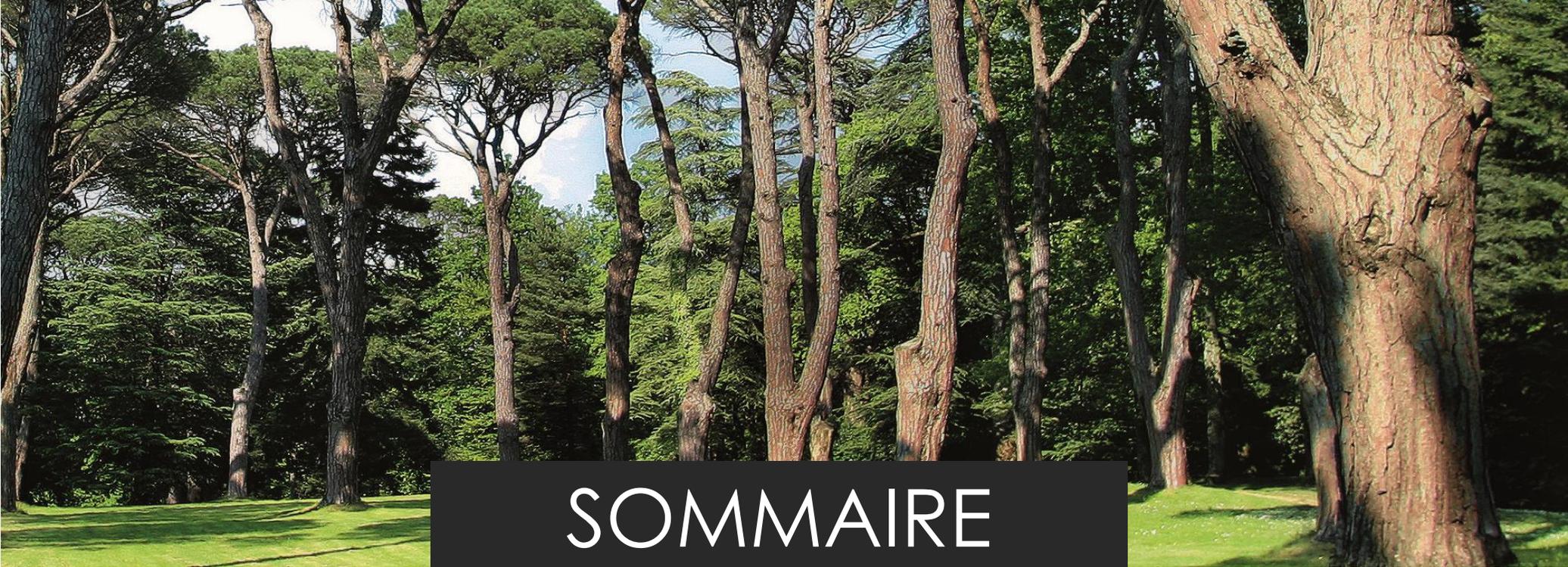
Chimie Analytique & Compatibilité

**Club CCM  
Avignon**

**13 avril 2017**



**Pierre Fabre**



# SOMMAIRE

**01** | PRESENTATION DU GROUPE

**02** | LES EXTRAITS VEGETAUX & L'HPTLC

**03** | L'HPTLC & LES CQ USINES

**04** | PERSPECTIVES DE DEVELOPPEMENT

# LABORATOIRES PIERRE FABRE

## PRENDRE SOIN DE L'HOMME DANS SA GLOBALITE



Monsieur Pierre Fabre  
1926 • 2013

Les Laboratoires Pierre Fabre ont été créés en 1962  
par M. Pierre Fabre, pharmacien d'officine à Castres (Tarn)

- 3 activités complémentaires « de la Santé à la Beauté »  
*Médicament, Santé Grand Public, Dermo-cosmétique*
- Plus de 2,2 milliards d'euros de CA en 2015 • Près de 13 000 collaborateurs dans le monde
- 2<sup>ème</sup> laboratoire pharmaceutique privé français
- 2<sup>ème</sup> laboratoire dermo-cosmétique mondial
- Expert dans la recherche, le développement et la production d'actifs d'origine naturelle ou biologique

# RECHERCHE & DEVELOPPEMENT



## **CENTRE DE RECHERCHE ET DE DÉVELOPPEMENT PIERRE FABRE**

Oncologie, Dermatologie, Nouvelles Entités Chimiques, Développement Pharmaceutique, Préclinique et Clinique, Médecine Translationnelle  
*Toulouse*



## **CENTRE D'IMMUNOLOGIE PIERRE FABRE (CIPF)**

Oncologie, Nouvelles Entités Biologiques et Productions Biotechnologiques  
*Saint-Julien-en-Genevois*



## **CENTRE DE RECHERCHE PIERRE FABRE (CRPF)**

Système Nerveux Central, Développabilité, Médecine Translationnelle  
*Castres (Campans)*



## **CENTRE DE RECHERCHE PIERRE FABRE (CRPF)**

Consumer Health Care  
*Castres (Péraudel)*



## **CENTRE DE RECHERCHE PIERRE FABRE DERMOCOSMÉTIQUE ET CENTRE DE RECHERCHE SUR LA PEAU**

*Toulouse (Hôtel Dieu et Vigoulet)*



## **UNITÉS DE RECHERCHE SUR LES ACTIFS VÉGÉTAUX**

*Gaillac et Soual*



## **UNITÉS DE RECHERCHE SUR L'EAU**

*Avène et Banyuls*

# DERMO-COSMETIQUE

## 2<sup>ÈME</sup> LABORATOIRE DERMO-COSMÉTIQUE MONDIAL

**1 280** MILLIONS € DE REVENUS  
dont 65 % à l'international

**7180** COLLABORATEURS

**10** MARQUES

### 8 mondiales

Pierre Fabre Dermatologie  
Eau Thermale Avène  
Ducray  
A-Derma  
Klorane  
Elancyl  
Galénic  
René Furterer

### 2 locales

Darrow (Brésil)  
Glytone (USA)



# EXPLORER LE MEILLEUR DE LA NATURE

## LA NATURE AU CŒUR DE NOTRE MODELE DE DEVELOPPEMENT



### Expertise historique de R&D

Le Cyclo 3 à base de Petit Houx fut le 1<sup>er</sup> produit lancé par M. Pierre Fabre (1961)



70 % du CA est réalisé par des produits dont le principe actif est issu de la nature (plantes, eau thermale)



15 000 échantillons de plantes soit la plus grande collection privée au monde



3 à 5 nouveaux extraits végétaux développés par an



Ruscus aculeatus



Catharanthus roseus

# LES PLANTES



**BOTANICAL  
EXPERTISE**  
Pierre Fabre

## BOTANICAL EXPERTISE PIERRE FABRE

UNE DEMARCHE LABELLEE POUR LE DEVELOPPEMENT RESPONSABLE  
D'ACTIFS VEGETAUX INNOVANTS, SURS ET EFFICACES

Bienfaits pour la santé et la beauté

### PRÉSERVER

Une préservation durable du patrimoine végétal et de la biodiversité, sources de bienfaits - connus ou encore à découvrir - pour la santé et la beauté de tous.

### GARANTIR

Une efficacité démontrée de nos actifs végétaux.  
Une exigence de qualité issue de notre culture pharmaceutique.

### RESPECTER

Une démarche respectueuse de nos partenaires, agriculteurs, récoltants, fournisseurs dont le savoir-faire contribue au développement de notre expertise botanique.

Une recherche de pointe sur les plantes, croisant les expertises complémentaires de botanistes, agronomes, biologistes et pharmaciens passionnés par les bienfaits du monde végétal.

### INNOVER



# BOTANICAL EXPERTISE PIERRE FABRE

## PIERRE FABRE DERMO-COSMETIQUE



ARGAN



KARITE



CALENDULA



AVOINE RHEALBA®



RENE  
**FURTERER**  
PARIS

LABORATOIRES

**KLORANE**

BOTANIQUE DE PRECISION

**A-DERMA**  
AVOINE RHEALBA®

# RECHERCHE & DEVELOPPEMENT PFDC

## Laboratoire de Chimie Analytique et Compatibilité

**35 collaborateurs**

**Missions:**

**Assistance à la formulation**

**Qualification des Matières Premières**

**Analyses lots d'études et lots Industriels**

**physico chimie**

**compatibilité**

**Assistance CQs Usines**

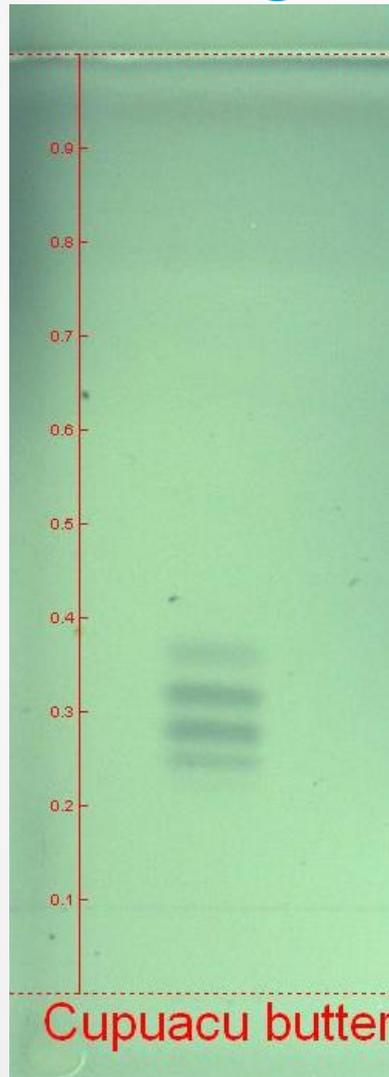




# Comment aborder l'HPTLC dans notre activité

# Tous nos extraits végétaux sont caractérisés par HPTLC

## ❖ *Huiles grasses* (Pharmacopée Européenne 2.3.2)



Solvant 1 : Ether ethylique 100

Solvant 2 : Dichlorométhane 20V

Acide acétique 40V

Acétone 50V

Révéléateur

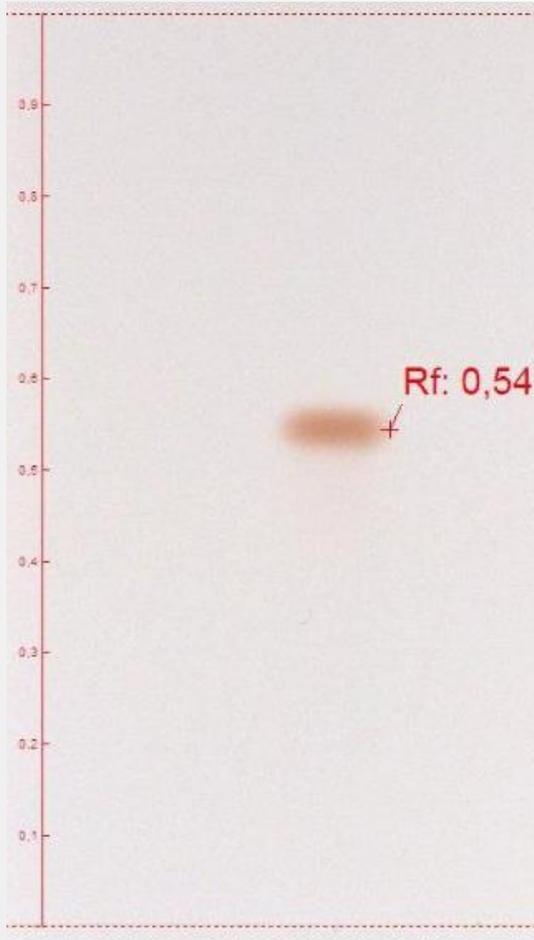
Solution d'acide phosphomolybdique



**Beurre de CUPUAÇU**

Riche en acides gras essentiels qui nourrissent la peau en profondeur, en antioxydants qui combattent les radicaux libres provoquant le vieillissement de la peau et en vitamine E qui permet de maintenir une hydratation durable.

# ❖ Acides Aminés



Glycine

Butanol	80V
Acide acétique	20V
Eau	20V

Révéléateur  
Ninhydrine



## Extrait OKARA

Actif végétal issu de la pulpe de fève de soja, l'extrait naturel d'Okara est proche de la protéine kératinique. Le pouvoir de ses acides aminés lui permet de restructurer et réparer en profondeur le cheveu sensibilisé.

- Monographies analytiques Extraits Végétaux
- Base de données Excel

Base CCM [Lecture seule] [Mode de compatibilité] - Excel

FICHIER ACCUEIL INSERTION MISE EN PAGE FORMULES DONNÉES RÉVISION AFFICHAGE COMPLÉMENTS

Normal Avec sauts de page Mise en page Personnalisé de page Règle Barre de formule Quadrillage En-têtes Zoom 100% Zoom sur la sélection Nouvelle fenêtre Réorganiser tout Figer les volets Fractionner Masquer Afficher Côté à côté Défilement synchrone Rétablir la position de la fenêtre Fenêtre

E152

	C	D	E	F	G	H	I
	Composé(s)	Famille de composés	Sous-Famille	Type de plaque	Concentration Témoin	Dépôt	Solvants (Remplacer Dichlorométhane/Chloroforme par HEPTAN)
13	Althée	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0.1 g%ml AIOH 50%	50	Dichlorométhane_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
20	Amande douce	Extrait hydrolysé		HP TLC Silice 60 F254	0.10 g%ml	20	Chloroforme_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
21	Amande douce	Extrait	Hydroglycolique	HP TLC Silice 60 F254	0.1 g%ml AIOH	20	Chloroforme_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
22	Amande douce	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0,6% AIOH	10	Butanol_Acide acétique_Eau(80_20_20)
23	Amande douce	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0,6% AIOH	10	Butanol_Acide acétique_Eau(80_20_20)
24	Amande douce	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0,6% AIOH	10	Butanol_Acide acétique_Eau(80_20_20)
40	Argania Spinosa extract	Extrait	NC	HP TLC Silice 60 F254	1.0 g%ml AIOH	5	Dichlorométhane_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
47	Arlatone 2121	Sucre		TLC Silice 60 F254	1 % CHCL3	10	Heptane_Ether Diéthylique_Toluène_Acide acétique(70_10_10_05)
48	Arnica	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0.1% AIOH	25	Butanol_Acide acétique_Eau(80_20_20)
49	Arnica	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0.2% AIOH	25	Butanol_Acide acétique_Eau(80_20_20)
50	Avocat	Huile		HP TLC RP18 F254	0.05 g%ml hexane	10	Solvant 1 : Ether diéthylique : migration 2 fois sur 0.50 cm So Dichlorométhane_Acide acétique_Acétone(20_40_50) : migration
51	avoine	Extrait	Hydrolysé	TLC Silice 60 F254	0.04 g%ml AIOH	20	Dichlorométhane_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
52	avoine	Extrait	Hydrolysé	TLC Silice 60 F254	0.2% AIOH	20	Chloroforme_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
53	avoine	Extrait	Hydrolysé	TLC Silice 60 F254	0.2% AIOH	20	Butanol_Acide acétique_Eau(80_20_20)
54	avoine (Huile d')	Huile		TLC Silice 60 F254	0.05 g%ml CHCL3	30	Heptane_Ether Diéthylique_Toluène_Acide acétique(70_10_10_05)
55	avoine / Lactose	Extrait	Sec	TLC Silice 60 F254	0.10 g%ml EtOH 80%	20	Dichlorométhane_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
56	avoine / Lactose	Extrait	Sec	HP TLC Silice 60 F254	Voir commentaire	20	Chloroforme_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)
57	avoine G2	Extrait	Hydroglycolique	TLC Silice 60 F254	0.10 g%ml AIOH	20	Dichlorométhane_Méthanol_Acide acétique_Eau(50_30_10_10)

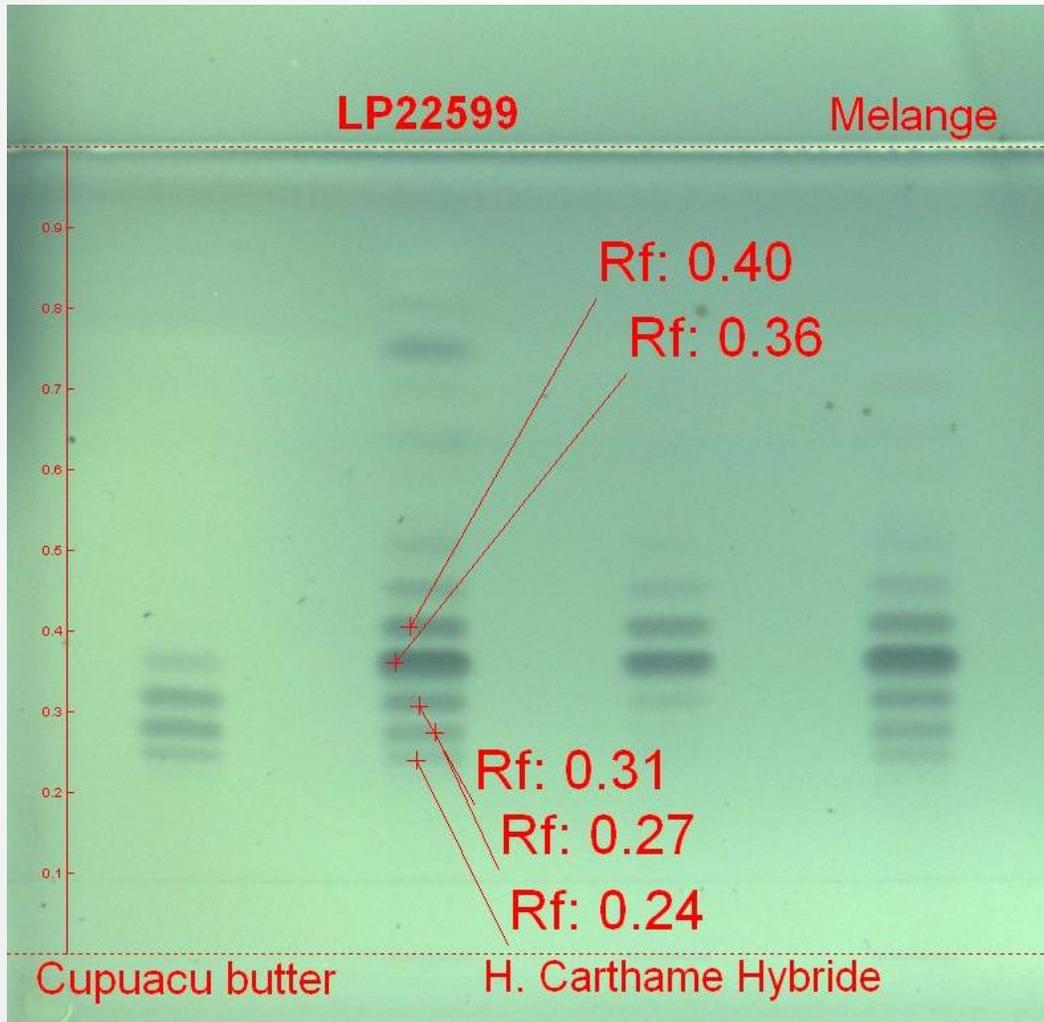


## La Formule

- Les différents extraits végétaux sont très souvent des mélanges où l'extrait ne représente que 2 à 3%, se rajoute ensuite le produit fini avec des formules complexes, pouvant contenir parfois plus de 25 ingrédients.
- Confrontés à plusieurs problèmes :
  - Mise en solution de notre produit fini
  - Sensibilité de la méthode
  - Interférences excipients : ex: Tensio-actif.....



# Exemples



## Extrait **CARTHAME**

Originaire du croissant fertile, le Carthame est un chardon oriental aux fleurs rouges, jaunes ou blanches. De ses graines, est extraite une huile très riche en acide gras essentiels, éléments hydratants

### Solvants de développement

**Solvant 1** éther éthylique

**Solvant 2** dichlorométhane 20V  
acide acétique 40V  
acétone 50V

### Révélateur

Solution d'acide phosphomolybdique

# Cire de Fleur Ylang Ylang



- Huile solaire
- Shampoing
- Baume

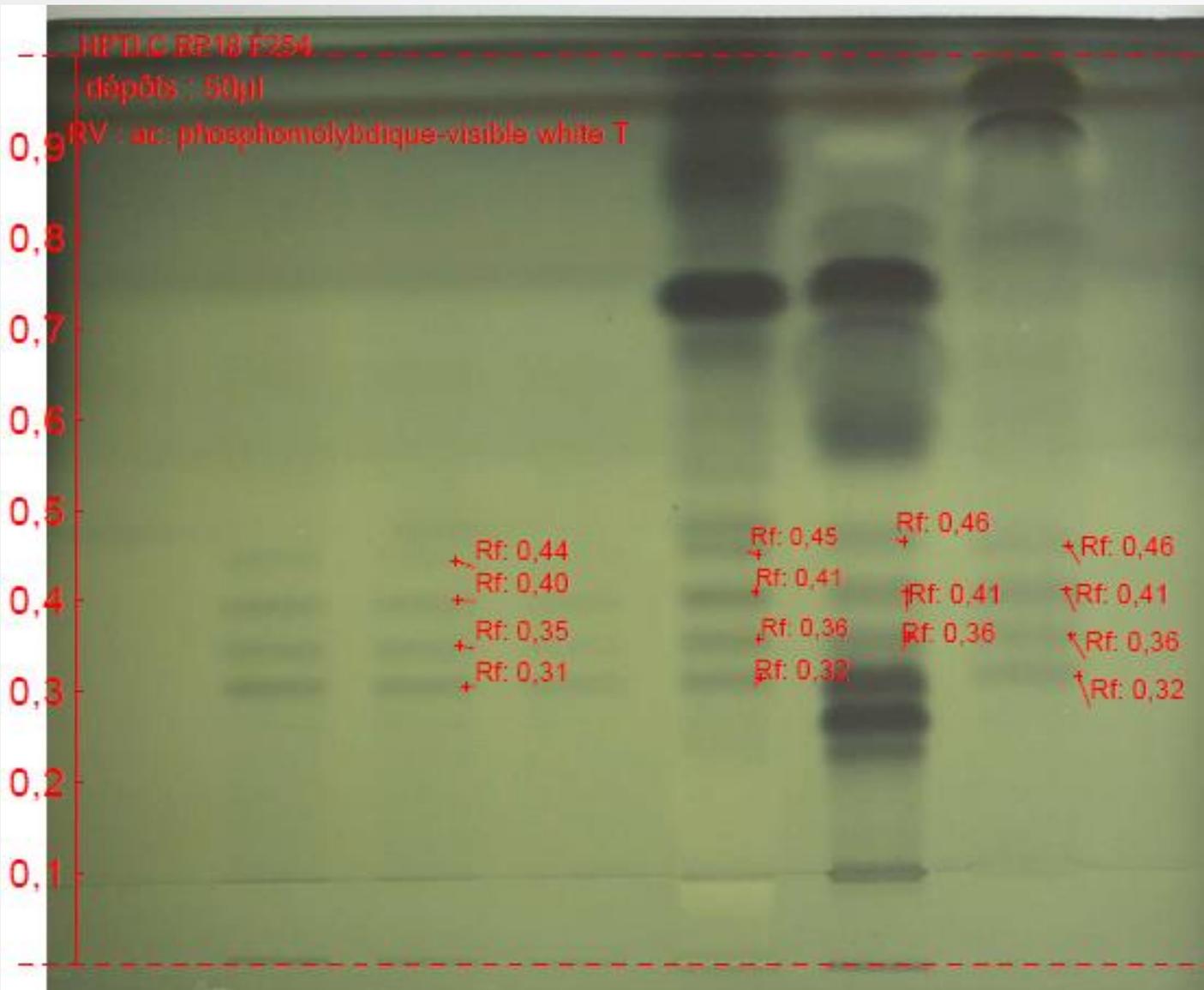
## Solvants de développement

**Solvant 1** éther éthylique

**Solvant 2** dichlorométhane 20V  
acide acétique 40V  
acétone 50V

## Révéléteur

Solution d'acide phosphomolybdique



## 3 Formes galéniques



# HPTLC en croissance

# Contrôle qualité Usine



# Extrait hydroglycolique de Plantule d'Avoine

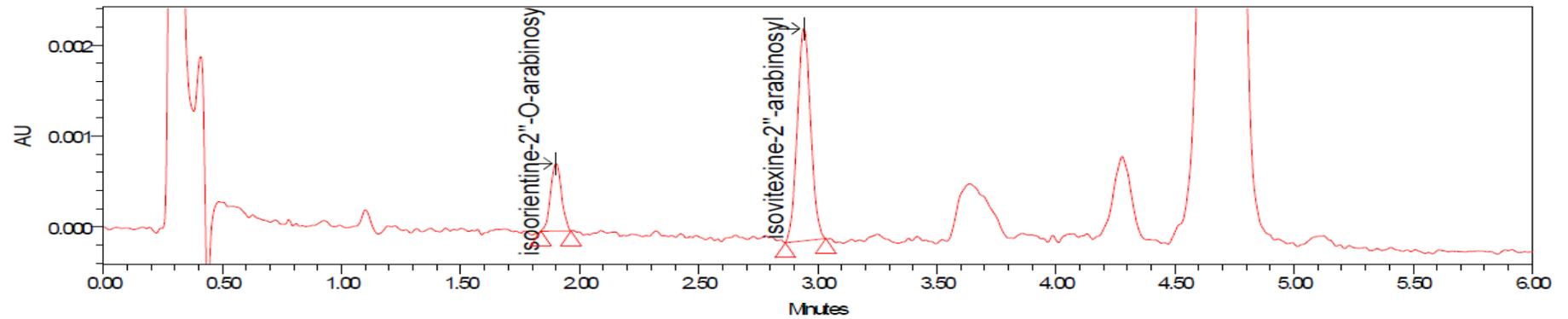
## L'Avoine Rhealba®

L'Avoine Rhealba®, aux propriétés anti-irritantes et apaisantes, constitue l'actif végétal unique et exclusif d'A-Derma, marque pionnière de la dermatologie végétale.

❖ *Deux méthodes développées*

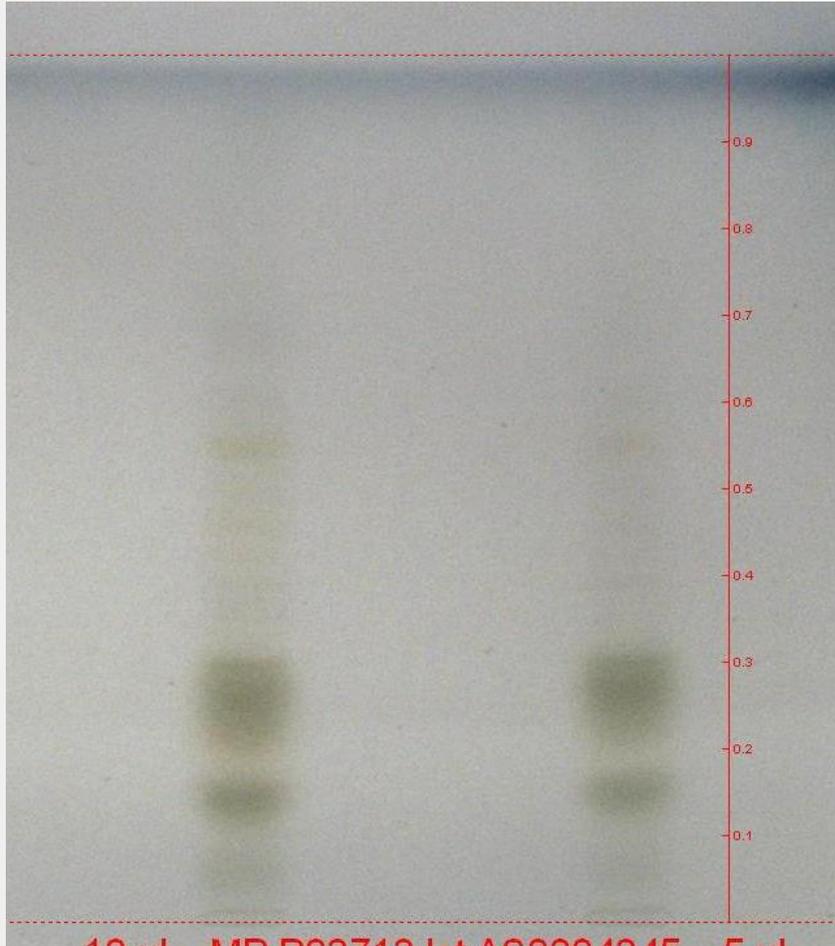
# Méthode HPLC

- L'extrait aqueux concentré de plantules d'avoine est identifié via la vitexine-2''-O-arabinosyl et l'isoorientine-2''-O-arabinosyl : 2 flavonoïdes



	Name	RT (min)	Area (μV*sec)	Height (μV)	Symmetry	Resolution
1	isoorientine-2''-O-arabinosyl	1.900	2377	744	1.01	
2	isovitexine-2''-arabinosyl	2.942	9135	2338	1.04	11.14

# Méthode HPTLC



## Solvant de développement

Butanol-1	40V
Acide acétique	10V
Eau deminéralisée	50V

## Révéléteur

Vanilline à 0,5 p.cent (v/v) dans l'éthanol absolu contenant 1% (V/V) d'acide sulfurique concentré.

# Intêret de l'HPTLC

- CQ usines sous-développés VS R&D, demande en HPLC, mais.....
- Contexte environnemental avec réduction des solvants & déchets
- Gain potentiel de temps (coût), efficacité et sécurité



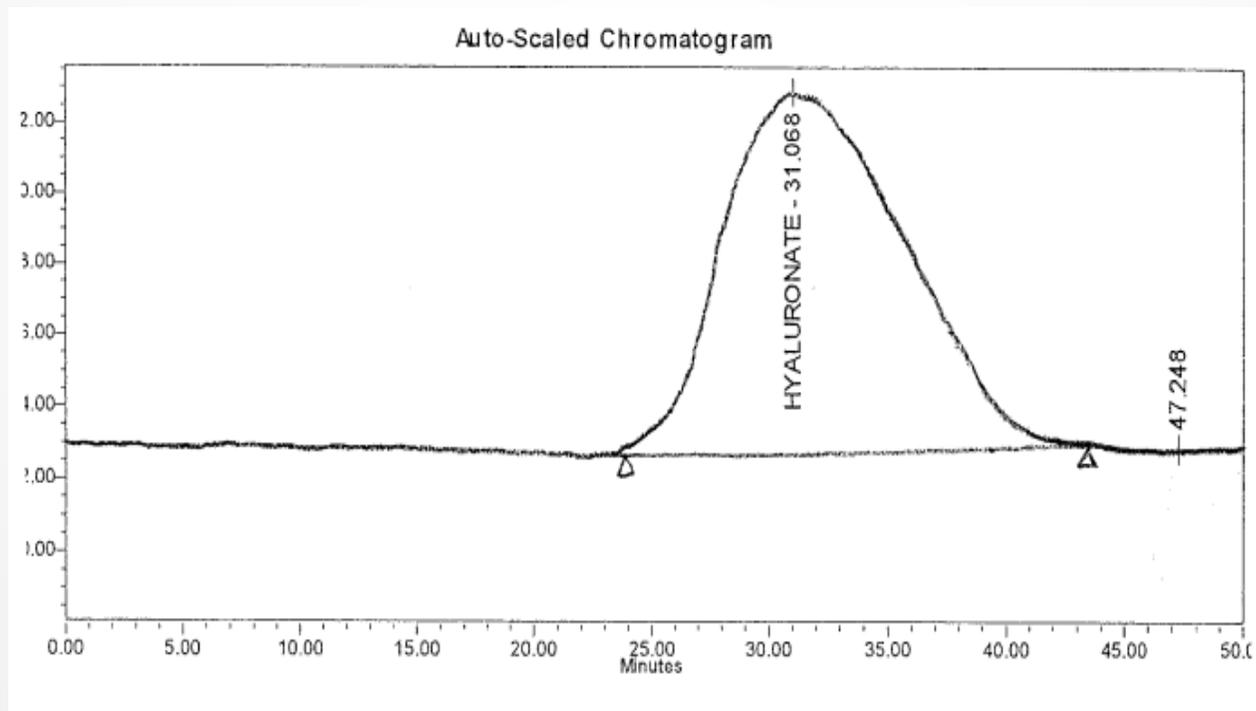
# Perspectives de développement

# ❖ Hyaluronate de sodium

(0.15 à 2.5 10<sup>6</sup> Dalton)

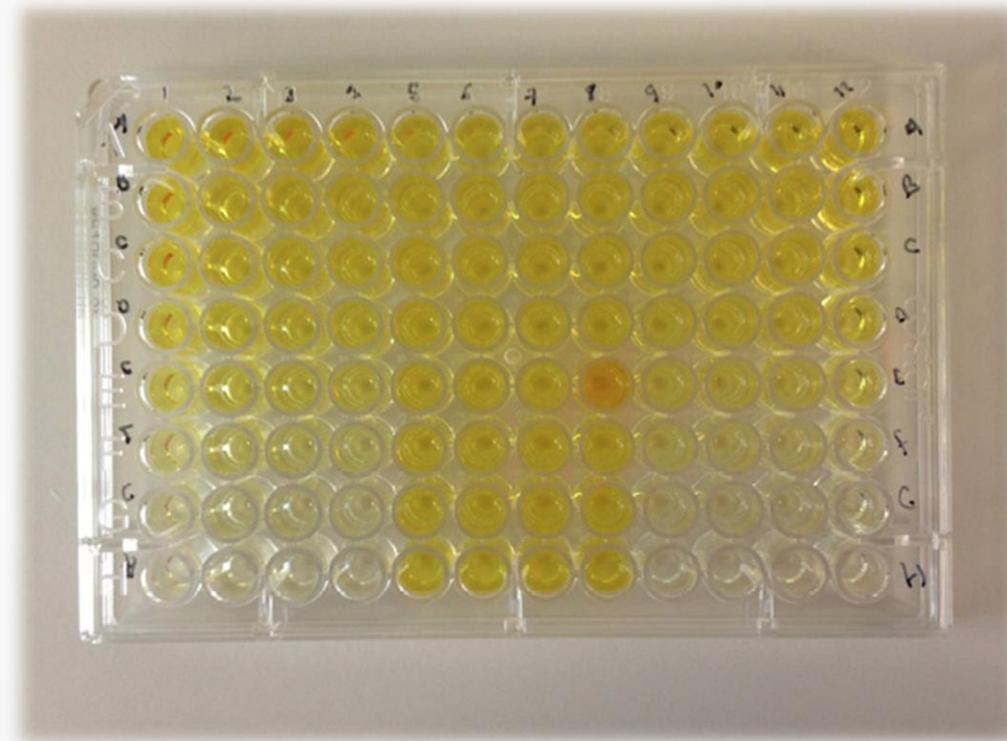
## ❑ Méthode HPLC

- Temps d'analyse très long 50 mins pour le témoin et 140 mins pour les essais
- Largeur de pic 20 mins



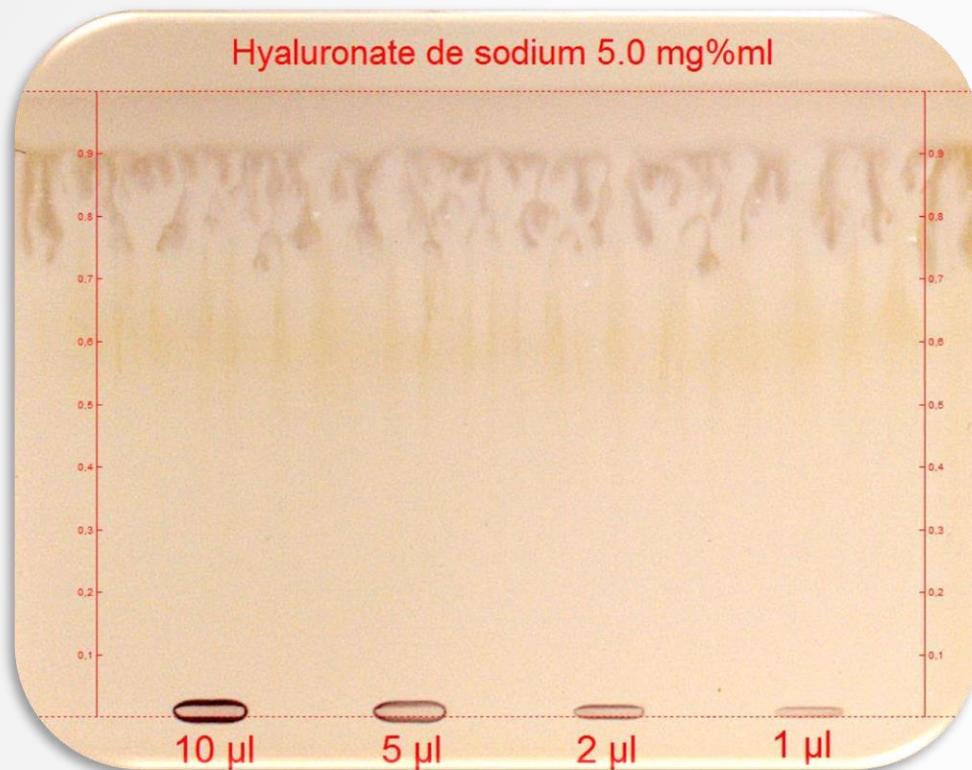
❑ Méthode Biochimique (ELISA)

- Kit très cher (environ 1000€/analyse)
- Problème de répétabilité, reproductibilité....



# SOLUTION : Méthode HPTLC ?

## ➤ Réunion du Club



### Solvant de développement

Butanol	2V
Acide formique	4V
Eau	3V

### Révéléteur

Solution d'Orcinol

M.Rothenhöfer et al. Journal of Chromatography A,1248 (2012) 169-777

- En cours de développement avec l'aide de CAMAG .....
- Méthode rapide, économique
- Transposable aux CQ usine....

# ❖ ATTENTE

Développer des méthodes de quantification en HPTLC



VALIDATION

# MERCI DE VOTRE ATTENTION

A-DERMA  
AVOINE RHEALBA®

LABORATOIRES

**KLORANE**

ELANCYL  
PARIS



Pierre Fabre



DUCRAY  
LABORATOIRES DERMATOLOGIQUES

EAU THERMALE  
**Avène**



Pierre Fabre

GALÉNIC  
PARIS

*Crédits photos et images :  
Arnaud Spani, Patte  
Blanche, Vent d'Autan,  
SIPA , Thierry Nou,  
Damien Cabrol pour les  
Laboratoires Pierre Fabre*



RENE  
**FURTERER**  
PARIS

Plus d'informations sur  
[www.pierre-fabre.com](http://www.pierre-fabre.com)