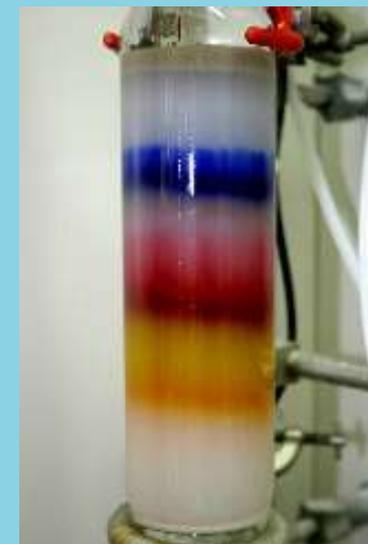


Jeudi 07 juillet 2022



- La Quantification en CCM - un outil décisionnel pour la chromatographie préparative



UN GROUPE PHARMACEUTIQUE MONDIAL ET INDÉPENDANT, GOUVERNÉ PAR UNE FONDATION



34^e groupe pharmaceutique mondial*
2^e groupe pharmaceutique français*



21 800 collaborateurs



4,7 Mds€ de chiffre d'affaires en 2020/2021

- médicaments princeps : 3,3 Mds€
- médicaments génériques : 1,4 Md€



625 M€ d'EBITDA en 2020/2021



150 pays dans lesquels sont distribués
les médicaments du Groupe



Un leader en cardiologie

4^e groupe pharmaceutique mondial en cardiologie*
3^e groupe pharmaceutique mondial en hypertension*



L'ambition de devenir un
acteur reconnu et innovant en oncologie



Plus de 20% du chiffre d'affaires princeps
investis en R&D chaque année

FOCUS FRANCE

MADE IN
FRANCE



100% du développement industriel réalisé en France

chimie - pharmacie - biologie

BOLBEC BACLAIR - Normandie

GIDY - Centre Val de Loire



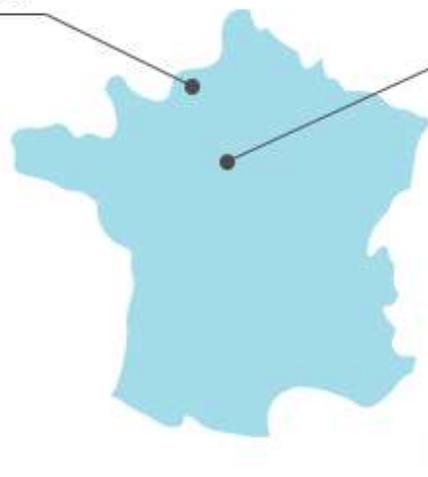
98% des principes actifs

des médicaments princeps
du Groupe synthétisés



105 M€

d'investissement pour doubler la
production du principe actif du Daflon®



Production de 35 %

des médicaments princeps
Servier

190 millions de boîtes

de médicaments princeps
produites en 2020/2021

RECHERCHE & DÉVELOPPEMENT



Crédit photo: iStock.com



13 ingénieurs de recherche **70** techniciens chimistes

Un centre de R&D dédié
à **l'innovation thérapeutique**
au bénéfice des patients

Développement de procédés
innovants et respectueux
de l'environnement

Production **de principes actifs**
candidats pour des études
pré-cliniques et cliniques

A quel moment intervient la chromatographie ?



L'histoire de la chromatographie chez ORIL Industrie

+ de 30 ans + de 3000
d'expertise sur le site impuretés isolées
depuis 1987

Une évolution de l'activité depuis 1987
Une expertise quasi-unique en France



- **2004** : Introduction de nouvelles technologies
- **2007** : Acquisition d'une colonne de taille industrielle
- **2012** : Nouvel investissement.
- Fin de la sous-traitance de la chromatographie à l'extérieur

- **2016** : feu vert du CODIR pour le lancement du Pôle de Chromatographie préparative
- **2017** : obtention de la subvention de la Région Normandie et début des travaux
- **2018** : **Naissance d'InnoPreP™**
(marque déposée)
 - Août : Intégration du labo
 - Novembre : première production
 - Décembre : fin du déménagement

Notre Mission

InnoPreP™: 500 m² dédiés à la Chromatographie Préparative Industrielle
→ du développement à la production

- Focalisés sur le **développement de méthodes** pour le purification de petites molécules, intermédiaires et APIs
- Isoler le **composé d'intérêt** dans la quantité la plus importante dans les spécifications de pureté dans un temps minimum
- Isolement des **impuretés** (présentes à un taux inférieur à 0,1%)
- Production de **lots de référence**
- Améliorer la qualité de **lots non conformes**
- Optimisation de procédés pour **diminuer les coûts de production et réduire le temps de mise sur la marché**

Pourquoi InnoPreP™ ?



- Une entité **unique** dédiée à la chromatographie préparative
- Des technologies **innovantes**
- Une activité continue
- Une vision **HSE** accrue



La chromatographie préparative est un outil essentiel pour...

» Accélérer le développement des processus 

» Diminuer les coûts de fabrication 

» Réduire les délais de mise sur le marché 

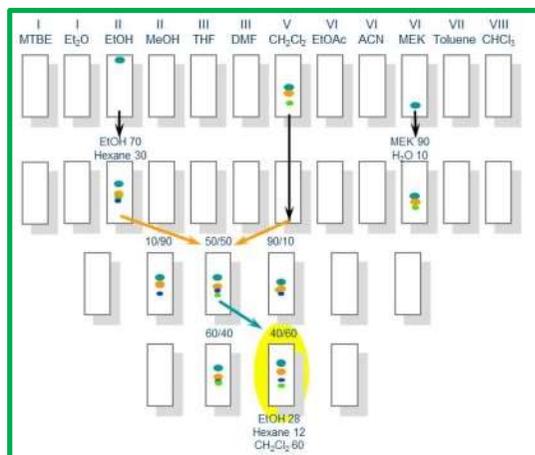
InnoPreP™

Du Laboratoire à la Production

Méthodologie



HPLC



CCM



Evaluation

1

Mise au point

2

Production

3

Laboratoire

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

Les plaques CCM

Le but ?

➡ Déterminer le meilleur éluant possible (= le meilleur mélange)

Avantages

Des résultats ...

RAPIDES

(20 minutes maximum par plaque)

VISUELS

TRANSPOSABLES

La montée en échelle

Nos technologies Batch

Nos équipements



40 g/jour

50 mm

50 mm

110 mm

110 mm

200 mm

450 mm

Equipement: 6 colonnes

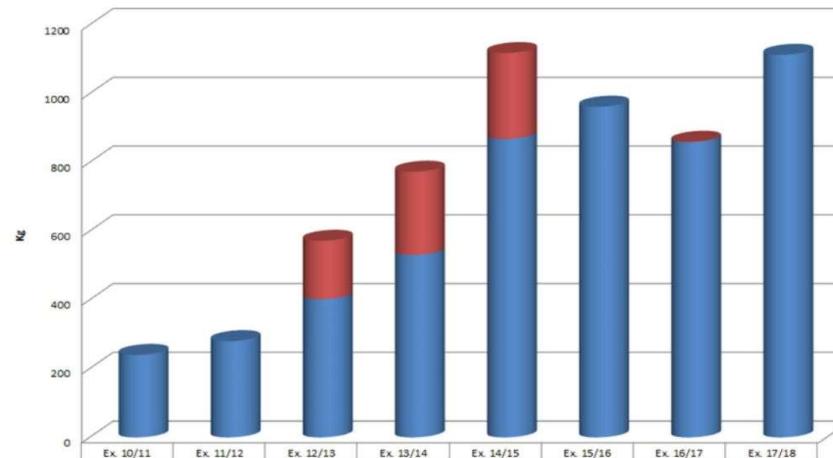


Jusqu'à 6 Kg/jour



Jusqu'à 300 g/jour

Industrial Chromatography Production



Jusqu'à 30 Kg/jour

InnoPreP™

Notre Approche : du Laboratoire à la Production

Technologie Batch

Equipement: 6 colonnes

50 mm

50 mm

40 g/jour

110 mm

110 mm

300 g/jour

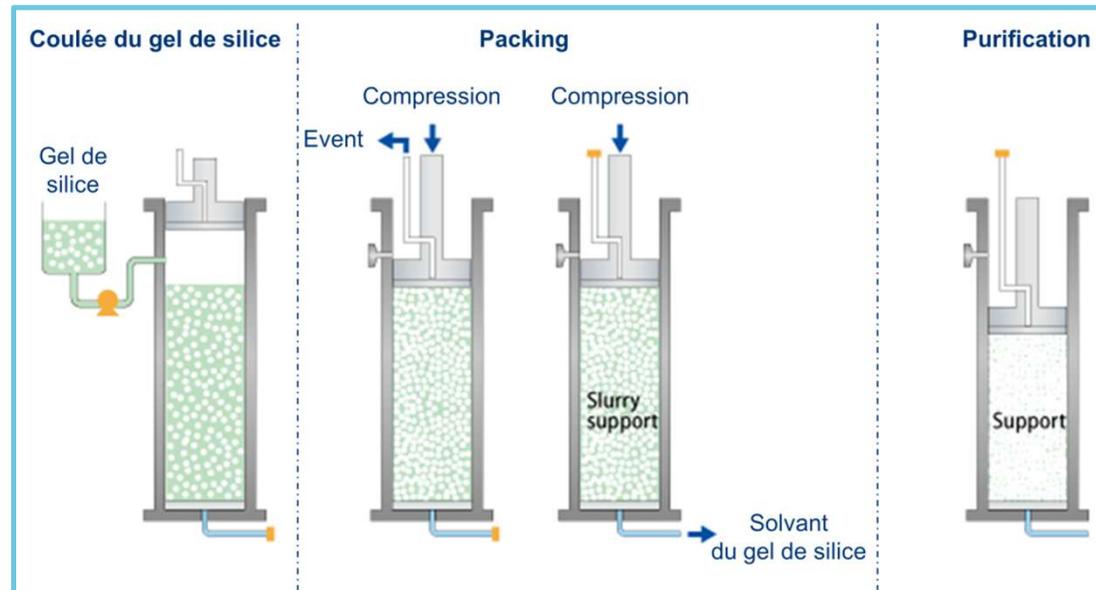
200 mm

6 Kg/jour

450 mm

30 Kg/day

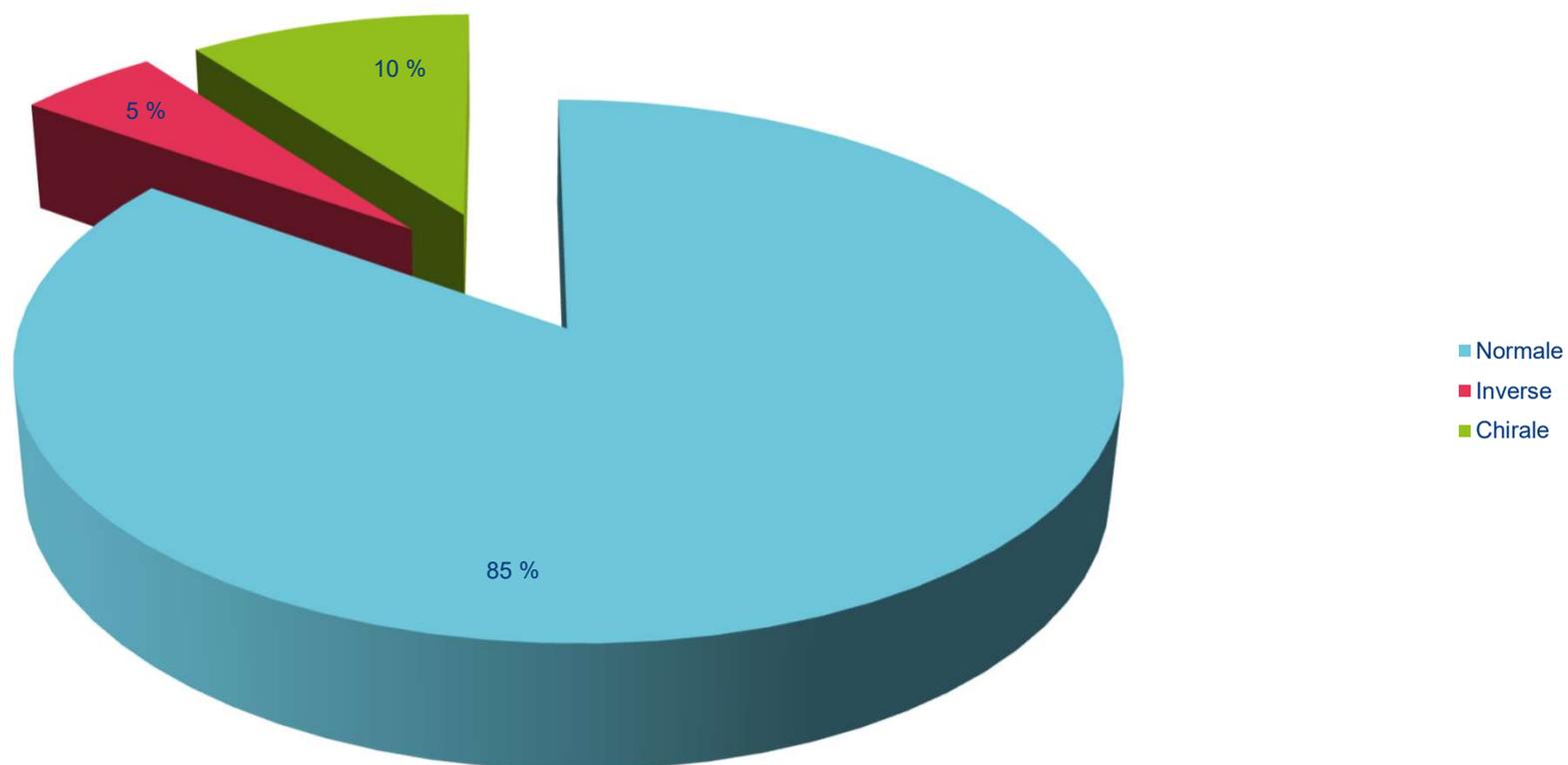
Compression Axiale Dynamique



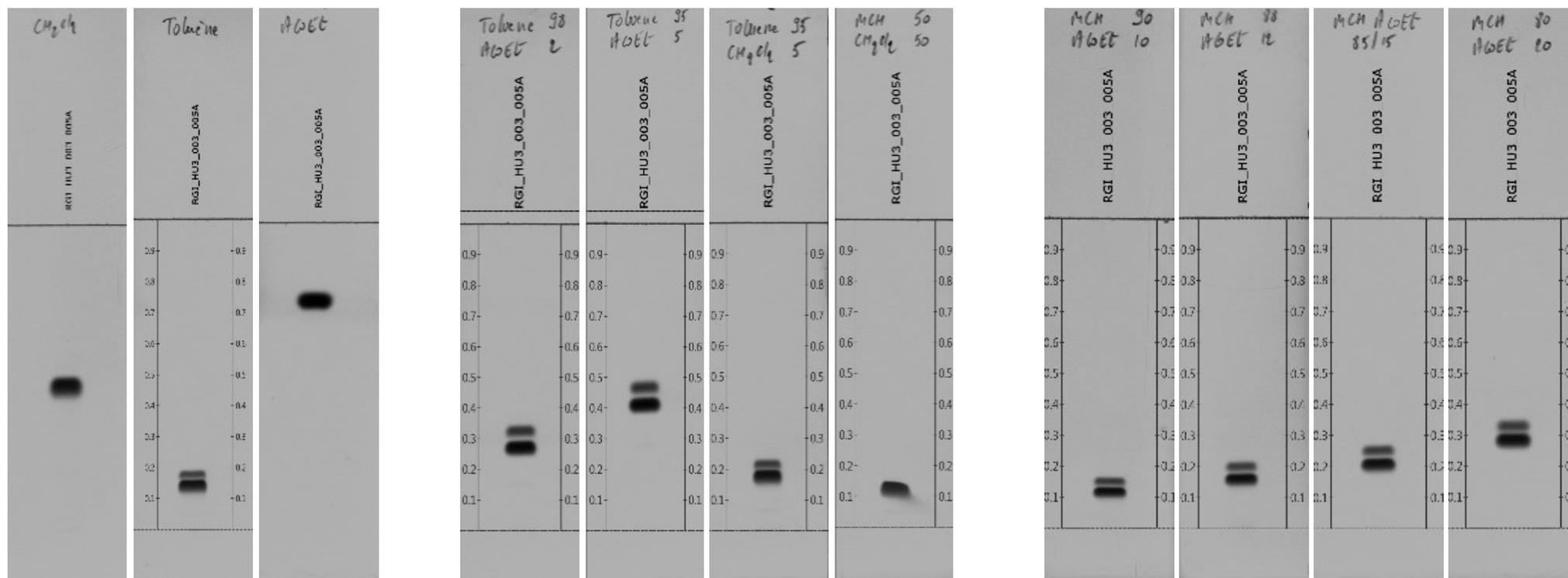
- Stabilité du lit
- Efficacité
- Reproductibilité des injections



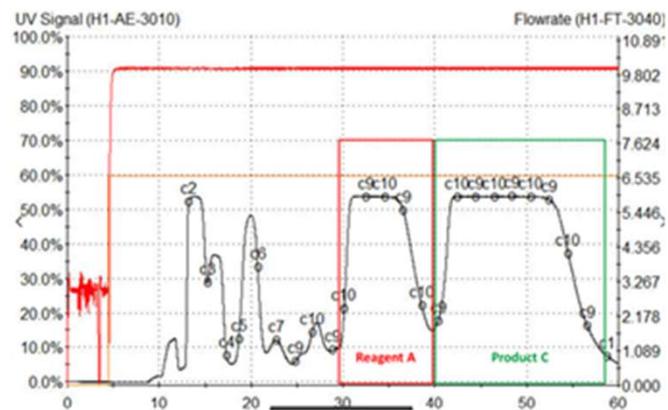
Répartition par type de phase stationnaire



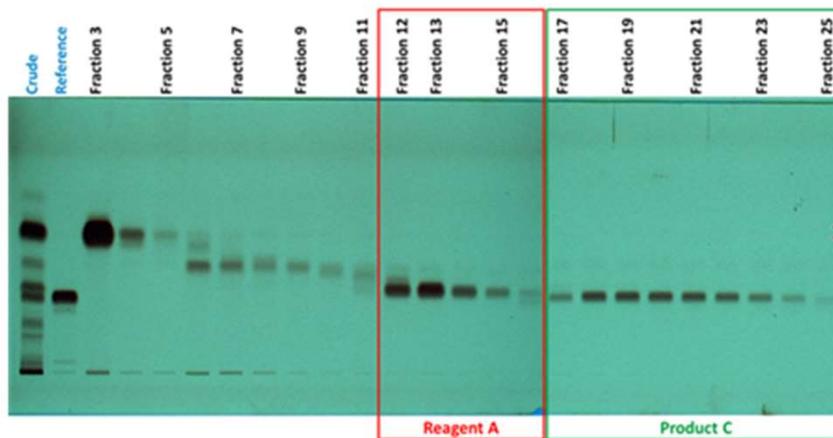
Le développement du système éluant



La mise en œuvre



Chromato purification



CCM de suivi



Quantification d'huile dans un Principe actif



Protocole :

PA 1 : solution à 50mg/ml dans CH_2Cl_2 -MeOH (50/50) (1g dans fiole jaugée 20ml)

PA 2 : solution à 50mg/ml dans CH_2Cl_2 -MeOH (75/25) (1g dans fiole jaugée 20ml)
- Solution légèrement trouble après solubilisation du produit aux ultrasons

Huile : solution à 0.5mg/ml dans CH_2Cl_2 -MeOH (50/50) (50mg dans fiole jaugée 100ml)

Dépôts : 20 μL pour le PA1 et le PA2 - 2 μL (1000ppm), 1 μL (500ppm) et 0.2 μL (100ppm) pour l'Huile

Plaque HPTLC préalablement lavée au Méthanol

Migration dans l'Heptane sur 6cm

Révélation par immersion dans l'Acide Phospho-Molybdique + chauffage à 180°C

Photo dans le visible

Environ 1000ppm d'Huile dans le PA1

Rien de détecter dans le PA2

Récupération d'un PA dans des jus mères de fabrication



Fabrication de deux opérations pour livraison de 3 Kg d'un lot galénique

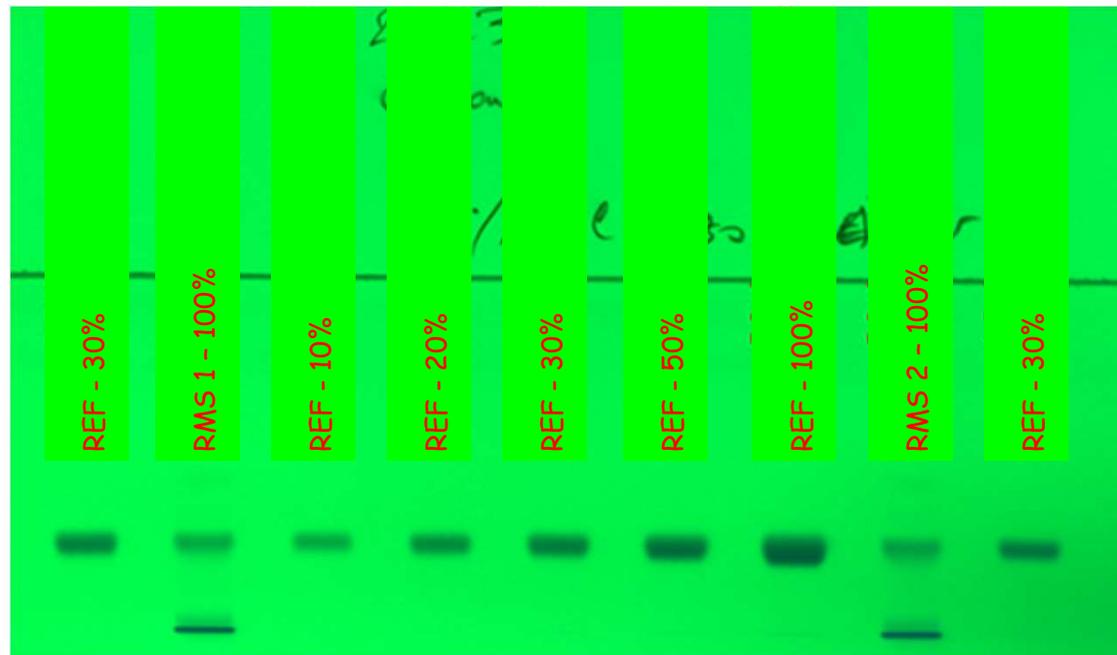


Récupération de 800 g de produit cible sur la 1ère opération et 1,2 Kg sur la 2ème opération

Récupération d'un PA dans des jus mères de fabrication

Réalisation dans un premier temps d'un RMS sur les JM des deux OP :

- Lot 18187790 mise à sec de 200 ml masse de RMS=53 g Volume de JM=25 L
➡ soit potentiellement 6,625 Kg de RMS
- Lot 18187791 mise à sec de 200 ml masse de RMS=26 g Volume de JM=25 L
➡ soit potentiellement 3,250 Kg de RMS



Récupération d'un PA dans des jus mères de fabrication

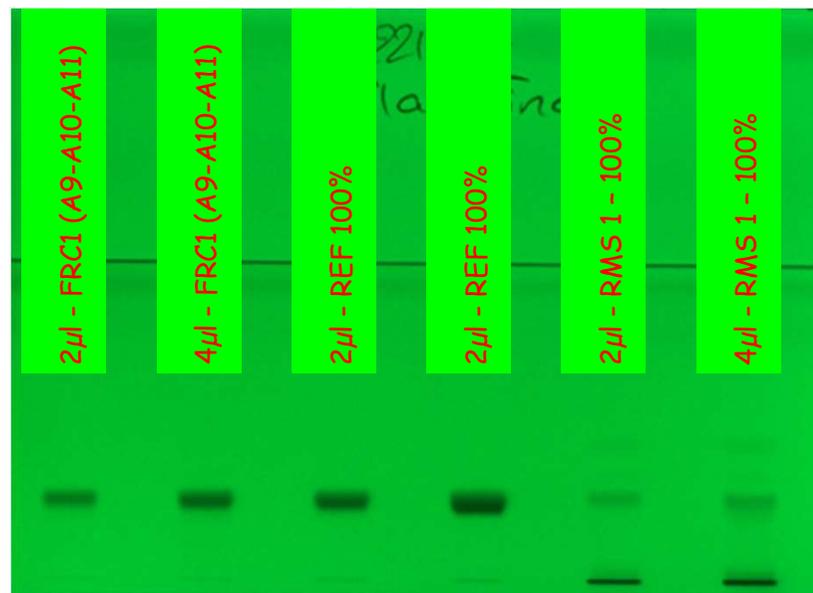
- ❖ D'après cette quantification nous avons environ 10% de produit cible dans le RMS 1 (18187790) et moins de 10 % dans le RMS 2 (18187791).
- ❖ Nous pourrions donc récupérer aux environs de 662 g et 325 g de produit respectivement dans les deux opérations.



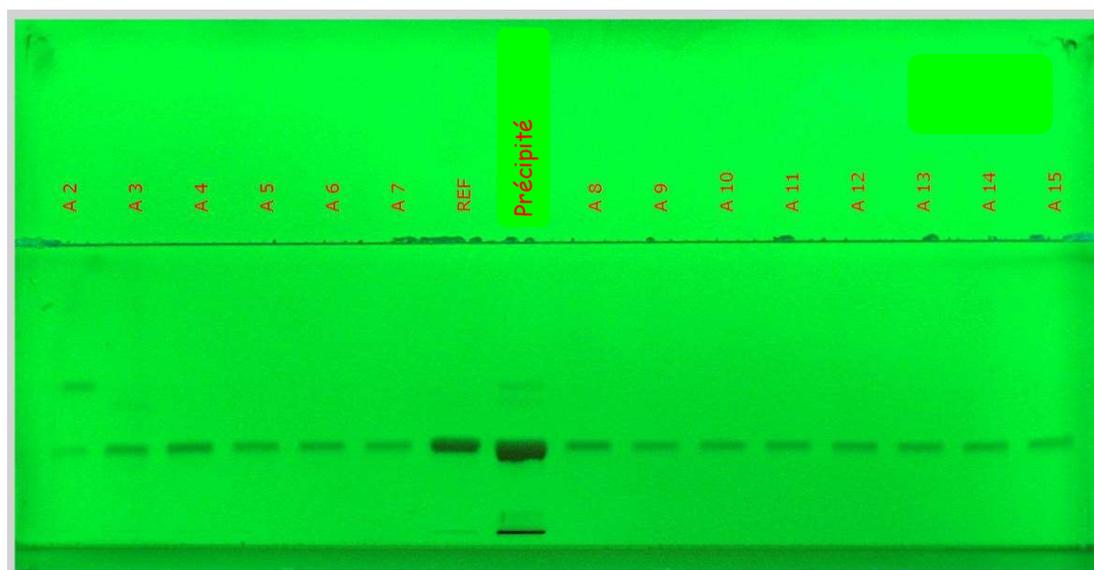
Récupération d'un PA dans des jus mères de fabrication

L'étude de faisabilité en chromatographie PREP sur 7 g de produit issu du RMS 1 sur une colonne 50 mm dans le système éluant toluène/acétate d'éthyle.

Mise à sec des fractions A9/A10/A11, récupération de 700 mg sur 7 g injecté, ce qui correspond à un rendement de 10% et qui confirme la quanti.

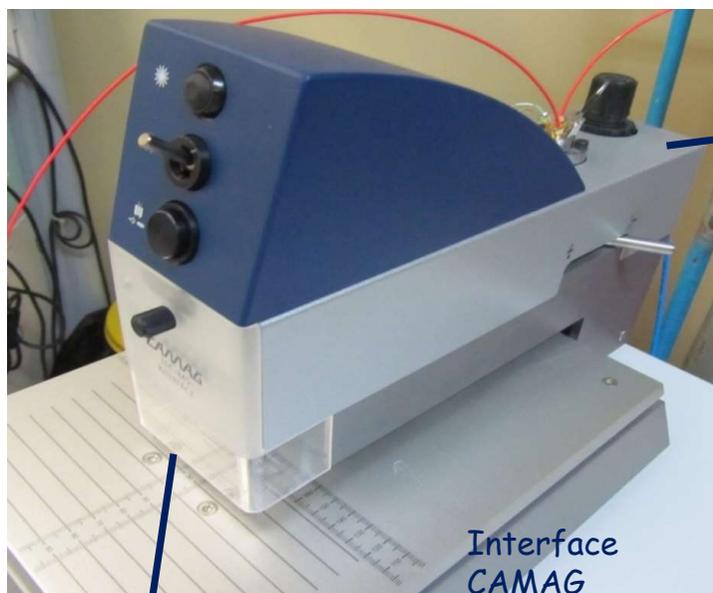


Récupération d'un PA dans des jus mères de fabrication



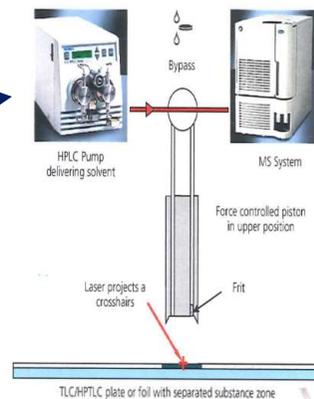
Vérification de la qualité des 800 g de PA précipité et purification sur colonne 450

Utilisation du couplage TLC/HPTLC-MS

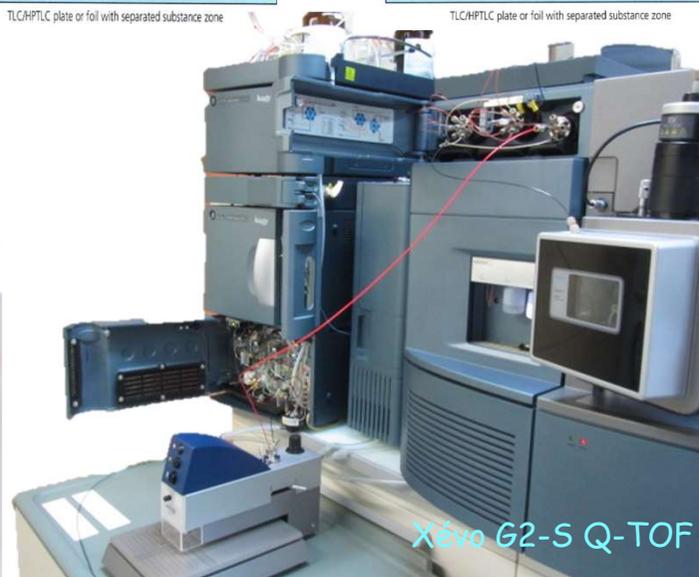
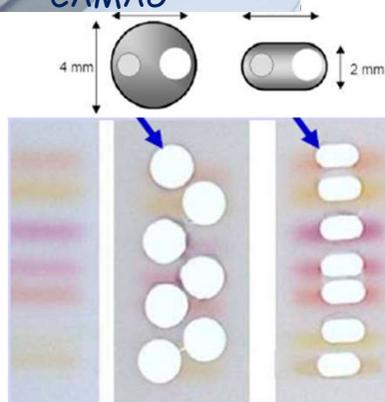
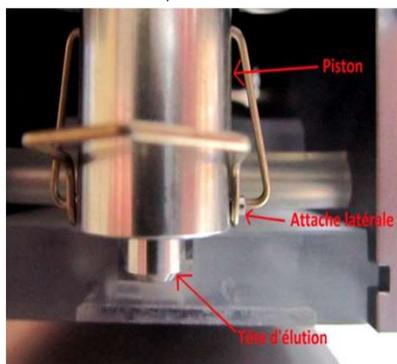
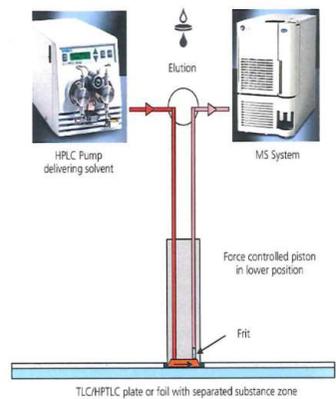


Interface CAMAG

Mode Bypass



Mode Elution



Chromatographie sur silice

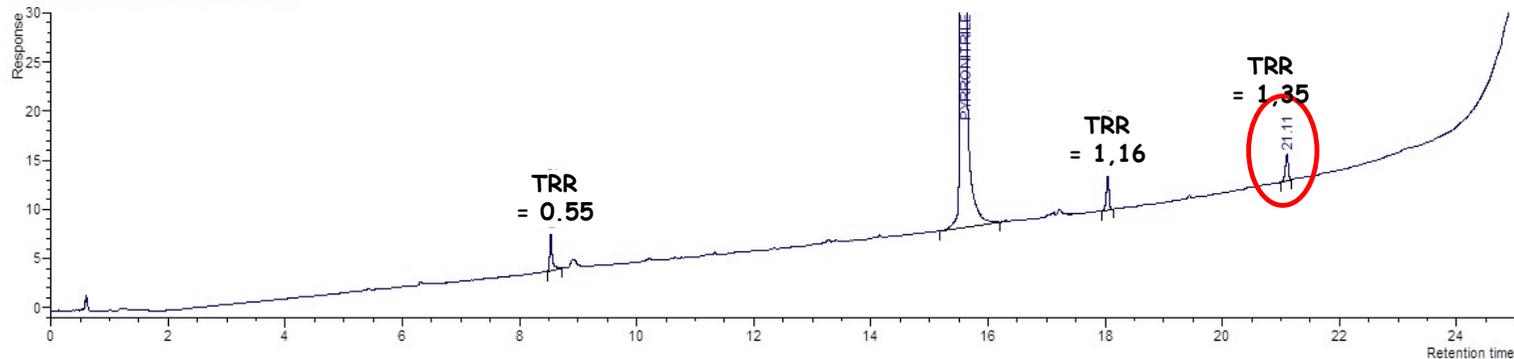
Contextualisation

Chromatographie en phase liquide - Normalisation à 100

Dosage du produit principal	
Méthode :	Phase stationnaire : KINETEX XB-C18 - Granulométrie : 1,7 µm - Longueur : 100 mm - Diamètre : 2.1 mm - Phase mobile A : Eau + 0.05 % (v/v) AMS - Phase mobile B : Acetonitrile - Elution : Gradient - Température : 50 °C - Débit : 0.4 ml/min - Mode de détection : UV - Longueur d'onde : 210 nm
Solvant de mise en solution	ACN
Concentration	0.20 mg/ml
Volume injecté	1.0 µl
Référence du chromatogramme	,A2D004679.POCA-051121,11,1-vers.1
TRR 0.55	0.39 %
TRR 1.00 Produit principal	98.9 %
TRR 1.16	0.27 %
TRR 1.35 Impureté	0.32 %

0001D (11,1)
Acquired vendredi 5 novembre 2021 16:09:06

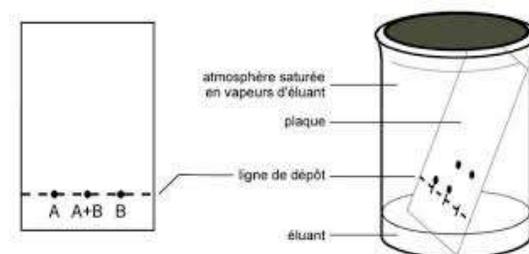
,A2D004679.POCA-051121,11,1



	N° pic	TR (min)	TRR	Hauteur (mV)	Aire (mVs)	% Aire	Nom du composé	Width 0,5 (s)	Type d'intégr.	Résolution	Amount User 5
1	1	8.540	0.548	3.676	10.9385	0.3898	IMPURETE TRR 0.55	2.259	BB	N/C	N/C
2	2	15.592	1.000	860.722	2775.4648	98.917	PRODUIT PRINCIPAL	2.919	BB	96.41	N/C
3	3	18.055	1.158	3.403	10.4601	0.3728	IMPURETE TRR 1.16	2.828	BB	30.35	N/C
4	4	21.110	1.354	2.678	8.9709	0.3197	IMPURETE TRR 1.35	3.085	BB	36.58	N/C

Chromatographie sur silice

Recherche de système sur des plaques CCM TLC



Chromatographie sur silice

Recherche de système sur des plaques CCM TLC

Test avec 3 solvants purs



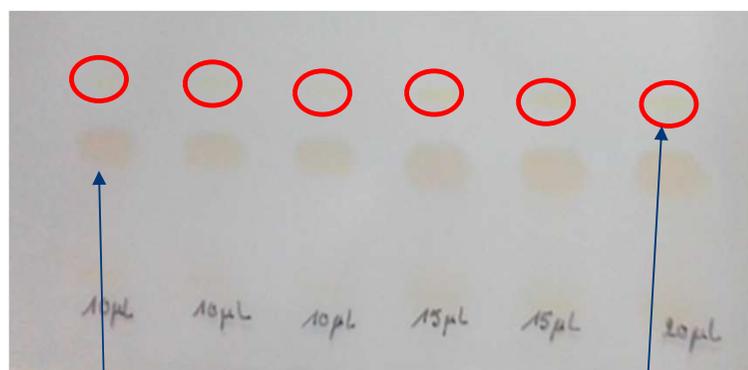
Chromatographie sur silice

Recherche de système sur des plaques CCM TLC



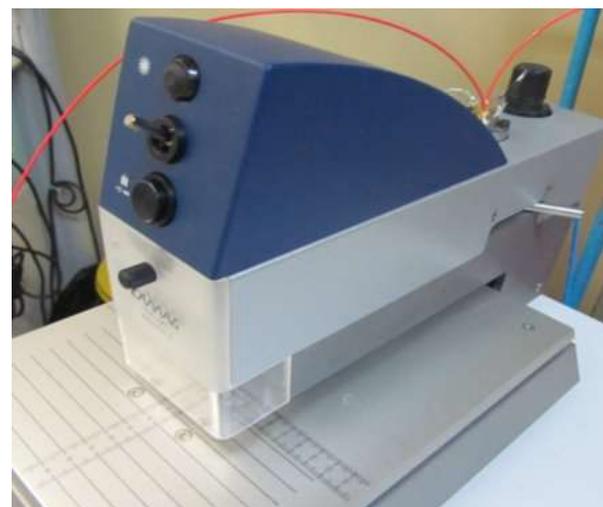
Chromatographie sur silice

Confirmation de l'impureté



Produit majoritaire

Impureté à identifier



Chromatographie sur silice

Confirmation de l'impureté

Conditions d'analyses

- Source d'ionisation (ESI) et modes (+ ou -)
- Tension de capillaire : 3 kV
- Température source : 120 °C
- Température désolvatation : 500 °C
- Débit gaz de désolvatation : 800 L/h

La technologie CCM-MS a permis de confirmer qu'il s'agit de l'impureté recherchée



Chromatographie sur silice

Transposition sur une colonne

Caractéristiques de la colonne une fois packée

- 6 Kg de Silice
- 20 cm de diamètre
- 37 cm de hauteur
- Débit de 2L/min
- On injecte une masse de 90g

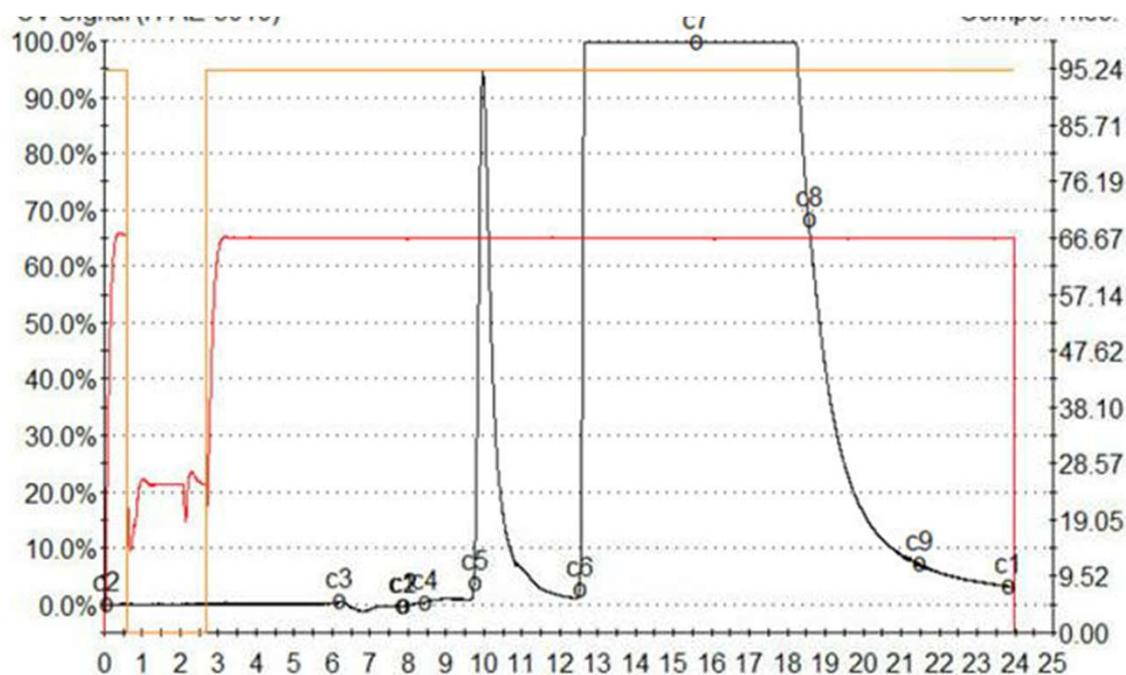


Chromatographie sur silice

Transposition sur une colonne

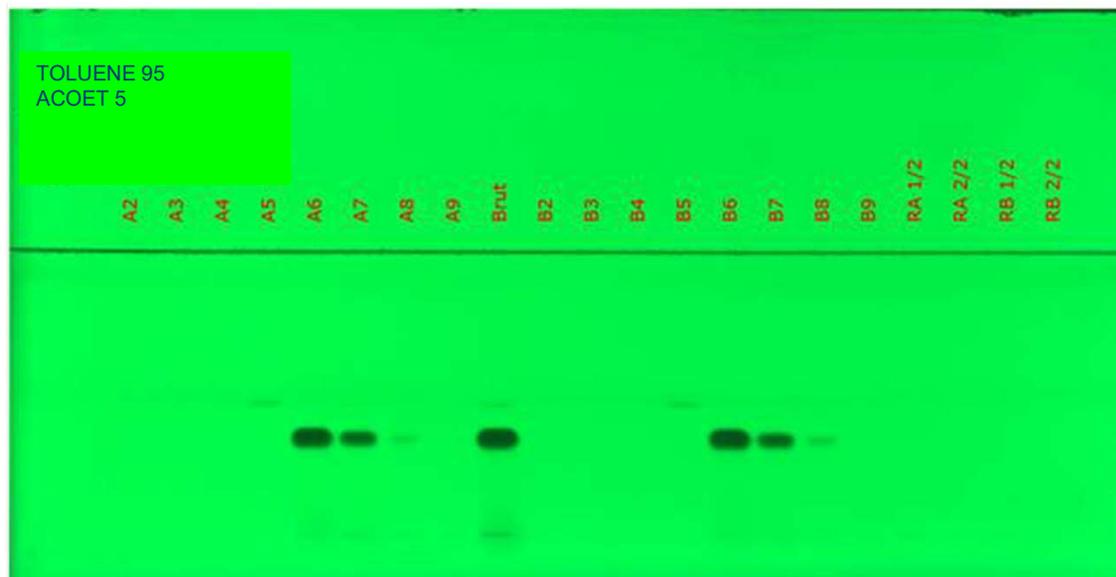
- Détection à 290 nm
- On récupère ce qui sort de la colonne dans différentes collectes
- 2 injections successives de 90 g

Chromatogramme :



Chromatographie sur silice

Suivi CCM



Impureté = A5 + B5

⇒ Evaporation

Masse obtenue : 670 mg
(Rendement : 0,35 %)

Conclusions

- L'HPTLC / CCM est **indispensable** dans le développement des nouveaux produits
- Permet de repérer la cible, et de transposer sur colonne préparative
- Permet de mettre à disposition plus rapidement des nouvelles molécules au bénéfice du patient

Merci pour votre attention