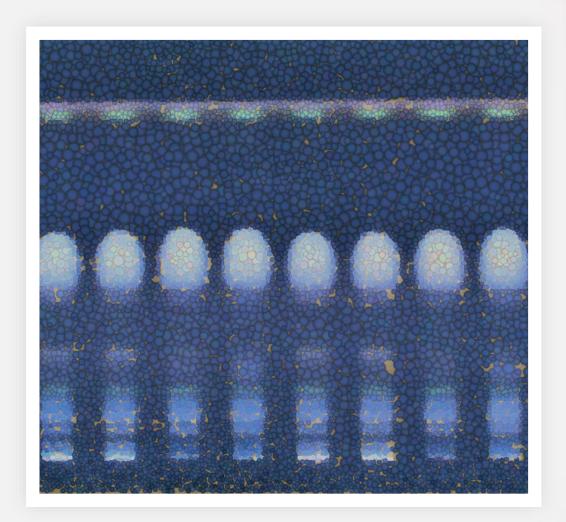
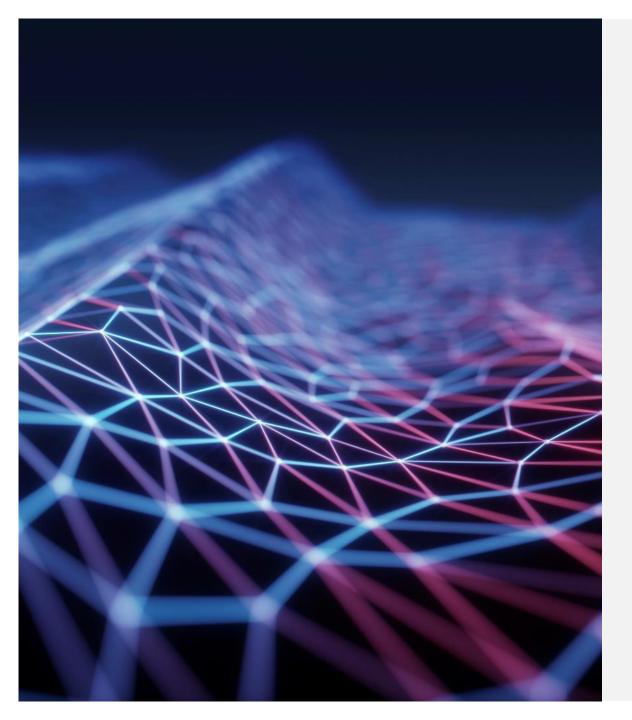
Groupe de travail enseignement de l'HPTLC

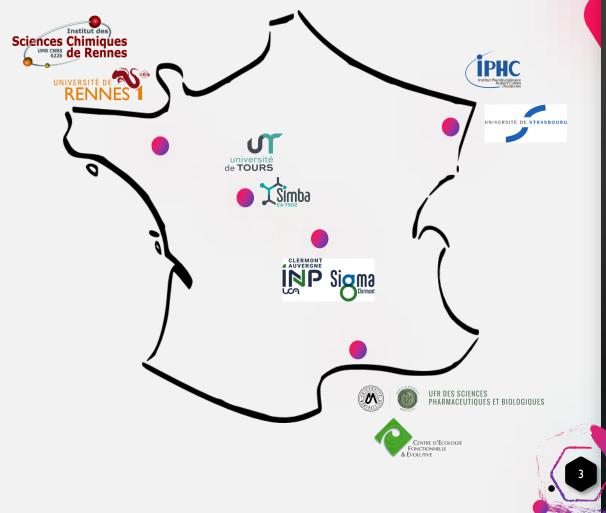
Club de CCM 6-7 juillet 2022

Pourquoi ce GT?

- Meilleure diffusion de la technique
 - → Passe par la formation des étudiants
 - ⇒ Bcp de pratiques différentes disséminées
 - Bcp d'enseignants avec un besoin de protocoles
 - ⇒ But : proposer des TP clés en main
 - S'inspirant des fiches appli de CAMAG









Pr Leslie Boudesocque-Delaye



- Professeur de Pharmacognosie
- Faculté de Pharmacie
- Responsable LP EcoNat
- Thématiques de recherche
 - Eco-extraction par NaDES
 - CPC, HPTLC
 - Applications cosmétiques et pharmaceutiques



Pierre CHALARD



Pierre CHALARD est professeur à l'Ecole d'Ingénieur SIGMA
Clermont (Clermont Auvergne INP) et le responsable du
groupe de recherche CESMA : « Conception, Extraction et
Synthèse de Molécules Antalgiques » au sein de l'ICCF
(Institut de Chimie de Clermont Ferrand/UMR 6296/UCA).
Son groupe rassemble son potentiel de recherche autour
d'une thématique innovante : le développement de nouvelles
molécules organiques bioactives pour lutter contre la douleur

et l'inflammation. Il déploie ses activités de recherche partenariales selon deux axes stratégiques complémentaires : l'extraction végétale et la chimie médicinale. Dans ce cadre, il développe l'utilisation de l'HPTLC afin de déterminer et caractériser les molécules d'intérêt à partir de matrices complexes.

Isabelle RIPOCHE



Isabelle RIPOCHE est, depuis 1999, enseignant chercheur à Sigma Clermont, école d'ingénieur en mécanique et chimie, après avoir obtenu un doctorat en Chimie Organique à l'université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand en 1994. Depuis 2013, elle est responsable du domaine IPSaCo (Ingénierie des Produite de Santé et Cosmétique), spécialité

accessible à partir de la deuxième année de formation. Elle effectue ses activités de recherche à l'institut de Chimie de Clermont-Ferrand dans la thématique CESMA (Conception, Synthèse et Extraction de Molécules Antalgiques) de l'équipe COM (Chimie Organique et Médicinale). Ses thématiques de recherche concernent notamment l'extraction, la caractérisation et la purification de marqueurs d'intérêt dans de matrices végétales.













Pr Françoise Fons







UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES



- Responsable de l'équipe de recherche Substances Naturelles et Médiation Chimique
- Dir Laboratoire Botanique, Phytochimie et Mycologie
- Thématiques de recherche
 - Composés volatils fongiques ou végétaux
 - Profilage chimique
 - Influences des facteurs climatiques sur les profils



UNIVERSITÉ DE STRASBOURG



Dr Ludivine Riffault-Valois



- Maître de conférences en Analyse du Médicament
- Equipe CAMBAP (Chimie Analytique des Molécules BioActives et Pharmacognosie)
- Thématiques de recherche
 - Analyse et identification de molécules bioactives
 - Innovation en extraction et analyse







Dr Ludovic Paquin Emmanuelle Limanton (Resp HPTLC)





- Thématiques de recherche
 - Développement et caractérisation de nouveaux solvants (NaDES, DES, Liquides ioniques...)
 - Développement de nouveaux procédés d'extraction associés ou non aux nouveaux solvants (microondes, sonochimie...)
 - Extraction de produits naturels (algues, végétaux...) pour l'agrolimentaire, la cosmétique...



Pratiques existantes



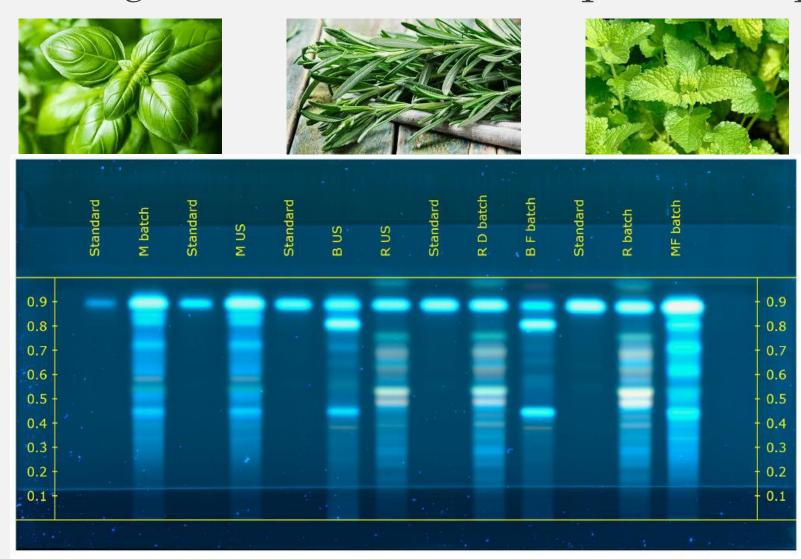
Dosage de l'acide rosmarinique dans 3 plantes

- Etude bibliographique
- Choix des plantes : basilic, romarin, mélisse
- ➡ Choix de deux méthodes analytiques : HPLC/ HPTLC
- Choix des techniques d'extraction : macération, ultrason; micro ondes
- ⇒ Mise au point de méthodes HPLC/ HPTLC
- Dosages de l'acide rosmarinique dans différentes MP
- Comparaison et analyse des résultats





Dosage de l'acide rosmarinique dans 3 plantes







TP Serious Game « Start up » : nouveau sourcing d'harpagoside



L'équipe:

Mélanie Gaychet



« Chef »



Jeanne Dusart



Responsable industrialisation

Bertille Dumazy



Responsable extraction

Alexandra Prud'homme



Responsable qualité

Mathilde Comte

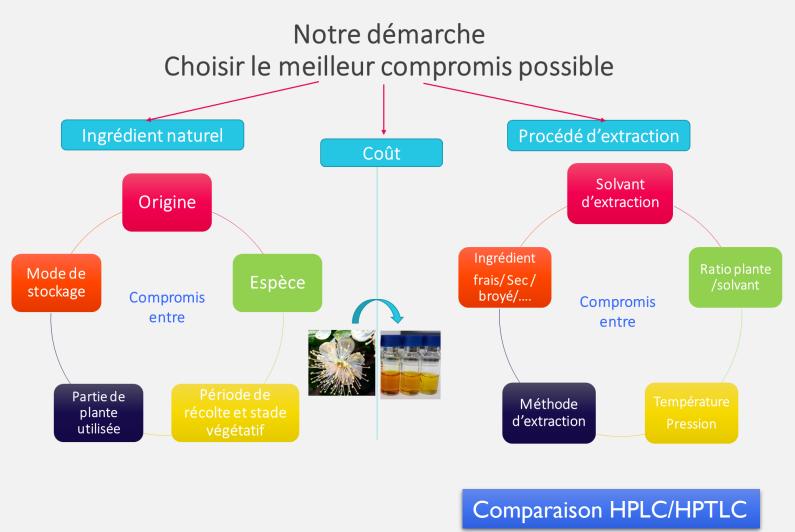


Responsable analytique



Le projet : doser la teneur en Hapagoside/ nouveau sourcing

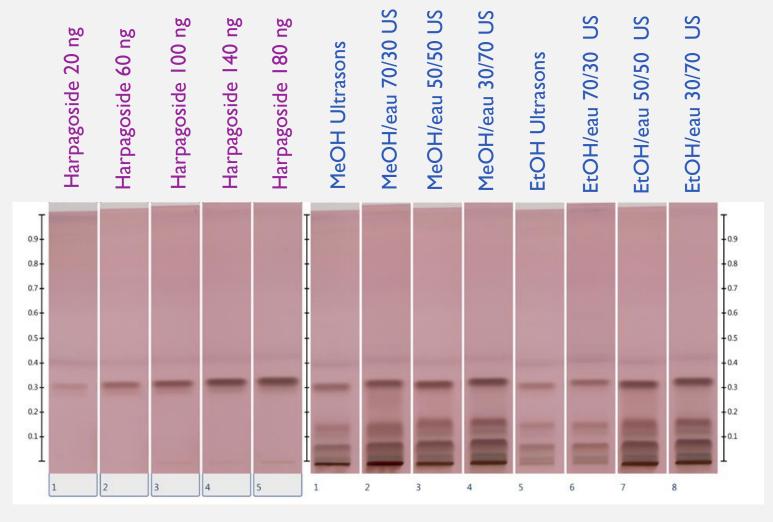






Profils HPTLC d'extraits de racines d' H. procumbens

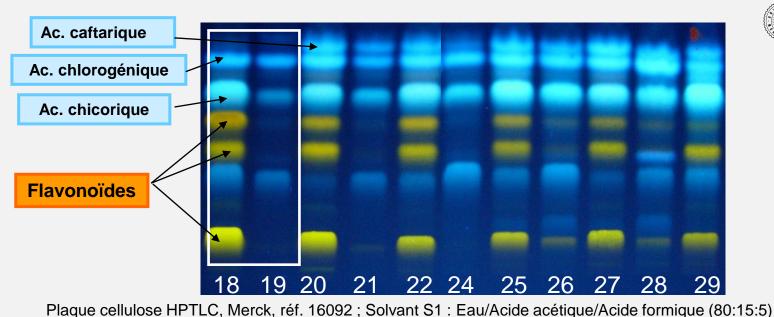




Harpagophytum procumbens ou « griffe du diable »



Comparaison du profil phénolique de chicorées cultivées par chromatographie sur couche mince







http://www.lacuisinedefabrice.fr

Flavonoïdes Couleur

18 : Chicorée italienne rouge Trévise pommée Partie rouge L

19 : Chicorée italienne rouge Trévise pommée Partie blanche L

20 : Chicorée italienne panachée, pommée Apex vert L

21 : Chicorée italienne panachée, pommée Base peu colorée L

22 : Chicorée italienne panachée, allongée Apex vert L

24 : Chicorée italienne panachée, allongée Zone blanche L

25 : Chicorée italienne panachée, allongée Apex vert/brun

26 : Chicorée italienne panachée, allongée Zone jaune/blanc

27 : Chicorée italienne panachée, pommée Apex vert/brun

28 : Chicorée italienne panachée, pommée Zone blanc/jaune

29 : Témoin chicorée sauvage

Profil phénolique d'Asteraceae comestibles par chromatographie planaire. Goetz C.

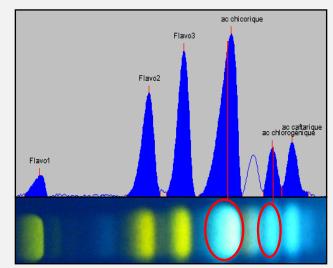
Mémoire de stage de recherche Master 1 de Biologie Santé du 10/05/2010 au 18/06/2010



Dosage semi quantitatif des composés phénoliques des laitues et des chicorées par CCM











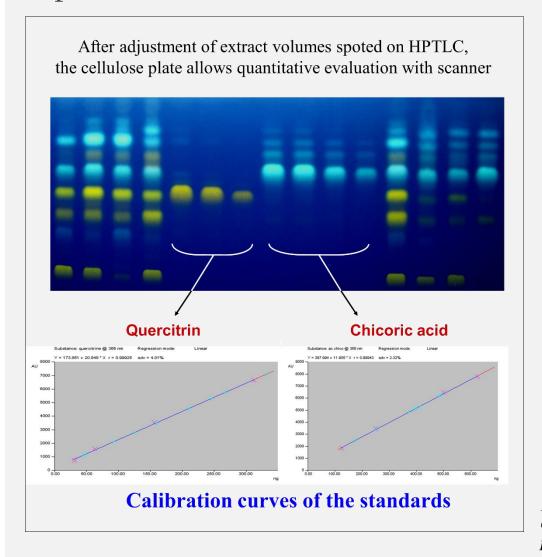
UFR DES SCIENCES
PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

Salade	Concentration en acide chlorogénique (mg/g)	Concentration en acide chicorique (mg/g)
C. intybus cultivée	2,17	3,18
C. intybus sauvage	6,26	37,6
L. sativa cultivée	1,47	33,9
L. serriola sauvage	1,89	27,6

- ⇒ A.chicorique 10 fois plus concentré dans la chicorée sauvage
- ⇒ Pas de telles différences de dérivés caféiques entre les laitues

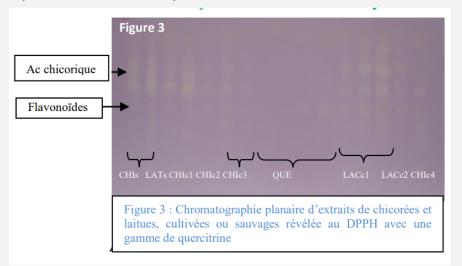


Optimisation du dosage des composés phénoliques des laitues et des chicorées par CCM et mesure de l'activité anti-oxydante



- **→** The levels of chicoric acid in the eight salads [7] vary from 1.1% to 3.1%.
- **→** The total **flavonoid** levels [7] are expressed in terms of quercitrin equivalent ranging from 0.1% to 3.2 %.

Analyse de l'activité anti-oxydante des Cichorioideae (coloration blanche)







UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIOUES ET BIOLOGIQUES

Fons F., Gargadennec A., Ory J., Bernard-Savary P. et Rapior S. Optimized separation of bioactive phenolic compounds in various salad species, using cellulose HPTLC plates and CAMAG instruments. International Symposium for High Performance Thin-Layer Chromatography (Basel, Suisse, 6-8/07/2011).



Les amatoxines : mise en évidence et dosage dans plusieurs espèces de champignons par la technique de Chromatographie sur Couche Mince Haute Performance.

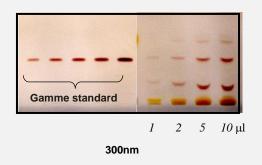


Fig 1 : plaque après révélation au cinnamaldéhyde. Dépôts de la gamme d'alpha-amanitines et d'extraits de champignon. (Solvant : Butanol-2/acétate d'éthyle/eau (28 : 24 : 10)

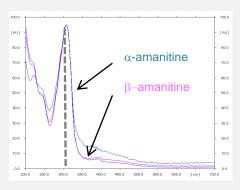


Fig 2 : Superposition des spectres Uv des amanitines (standards et champignons).

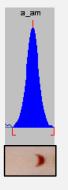


Fig 3 : Superposition du chromatogramme (scanner) et de la plaque correspondante après révélation.

 α -am : taux compris entre 0,048<x<0,51. La teneur est dont très variable d'un champignon à l'autre.

 β –am : absence ou teneur très faible dans les champignons étudiés.

(écart-type) : meilleure reproductibilité pour Amanita phalloides





UFR DES SCIENCES Pharmaceutiques et biologiques

Application HPTLC en pédagogie

- TP d'une matinée Licence professionnelle NoVEx
- Analyse quantitative et screening
- Prévision :TP Master 2 Analyse et Master 2 MIAMSA









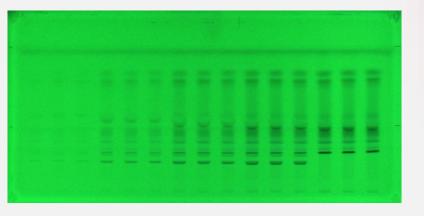
Application HPTLC en pédagogie

TP en LP NOVEX

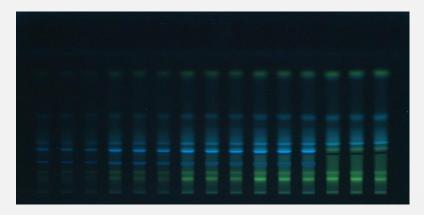
- Théorie sur la méthode
- Préparation des standards (vitamines) et éluants
- Création de séquences sur Vision Cats et Wincats
- Utilisation de la chaîne CAMAG complète







254 nm



366 nm



Application HPTLC en pédagogie



Equipement des salles de TP à la faculté de pharmacie d'Illkirch depuis 2017











Actuellement utilisé : UETP de pratiques fondamentales en analyse du médicament

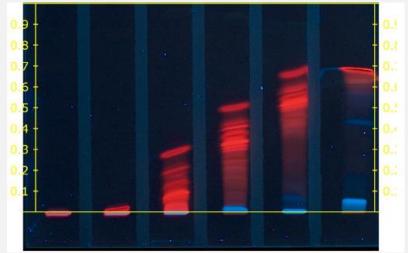
Objectifs : nouveaux entrants étudiants Master I – découvrir ou redécouvrir les bases des méthodes chromatographiques

utilisées couramment en industrie pharma.

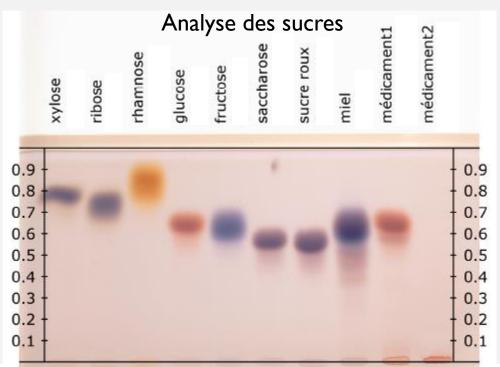
Sont abordées notamment :

Notion de phase mobile / élution avec différents mélanges d'éluants en cuve Vario pour la séparation de chlorophylles (réalisation d'un extrait éthanolique de lierre) Notion de révélateurs spécifique/non spécifique : analyse des sucres et application du réactif de Molich

Analyse des chlorophylles



Comparaison simultanée de 6 systèmes d'élution

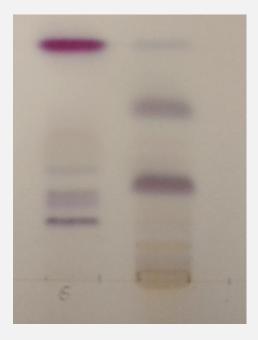




UNIVERSITÉ DE **STRASBOURG**

Actuellement utilisé en UE de contrôle qualité des médicaments et des produits de santé Contrôle qualité d'huiles essentielles d'eucalyptus et analyse HPTLC avec comparaison avec une autre huile essentielle (lavande).

Etudiants de Master I an Analyse du médicament et en 2ème année des études de pharmacie (UE optionnelle).



Eucalyptus globulus Lavandula angustifolia



Eucalyptus radiata

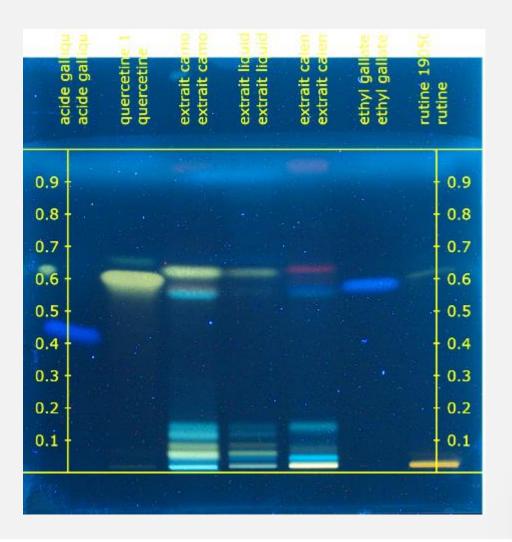
Lavandula angustifolia





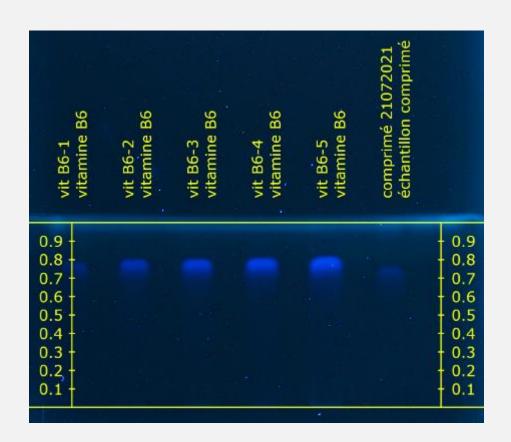
Utilisé en L-Pro Produits de santé à base de plantes, UE Techniques et méthodes analytiques

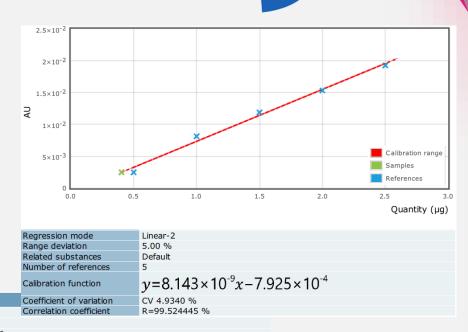
Contrôle qualité d'un produit de santé contenant notamment un extrait de calendula et un extrait de camomille, extraction liquide-liquide préalable et analyse de l'extrait



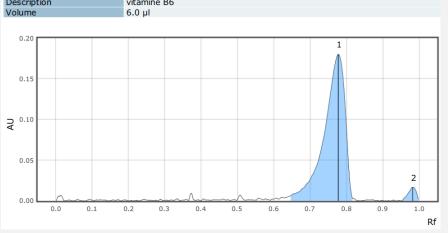


Projet travaux pratiques contrôle qualité des médicaments et des produits de santé : dosage de la vitamine B6 dans des compléments alimentaires





UNIVERSITÉ DE STRASBOURG



Reference

Track 3:



Activités d'enseignements en lien avec HPTLC

- Pharmacie 3^{ème} année
 - UE Libre Plantes alimentation et santé
 - Compléments alimentaires
 - UE Cannabis et opium de l'addiction à la thérapeutique
 - Expertises médico-légales
- Licence professionnelle Formulation et Contrôle Qualité des cosmétiques
 - UE Matière première et Contrôle qualité
 - Optimisation d'un extrait
 - UE Contrôle qualité
 - Matières parfumantes
- M2 Plantes et Société
 - UE Extraction et analyse de plantes
 - Optimisation d'un extrait



Polyphénols du cranberry



- Dans le cadre UE Plantes alimentation et Santé
 - Mise au point d'un TP
 - Se basant sur nos travaux
 - Adaptation du protocole
 - Extraction de compléments alimentaires
 - Purification des polyphénols
 - Analyse DMAC et HPTLC des extraits

Arkopharma











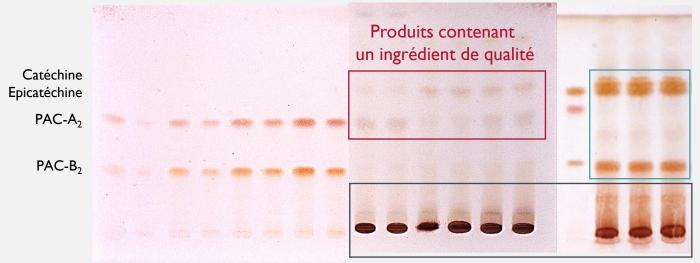
Polyphénols du cranberry



- Dépôts des échantillons à tester:
 - •10 µl en bande de 8 mm, à 80 nl/s,
 - •espace entre les bandes 5 mm
- Phase mobile:
 - •CH₂Cl₂/AcOEt/Ac formique (6:10:2, v/v)

RévélationAnisaldéhyde sulfurique

•Densitométrie : lumière blanche



PACs polymériques

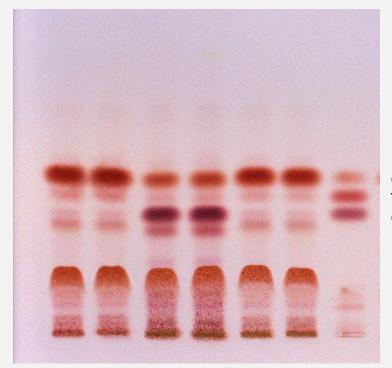
Produit contenant plus de raisin que de cranberry

Expertise de lots de cannabis



UE Cannabis et Opium

- Solutions échantillons :
 - Extrait éther de pétrole repris dans 2 mL.
- Dépôts des échantillons à tester:
 - 10 μl en bande de 10 mm, à 120 nl/s, espace entre les bandes 5 mm
- Dépôts des références :
 - THC, CBD et CBN à 0,5 mg/ml
- Phase mobile:
 - Heptane/éther diéthylique (80:20, v/v), développement sur 9 cm.
- Réactif à pulvériser :
 - Solution de sel de bleu solide
- Analyse densitométrique : à la lumière blanche après révélation



CBD THC CBN



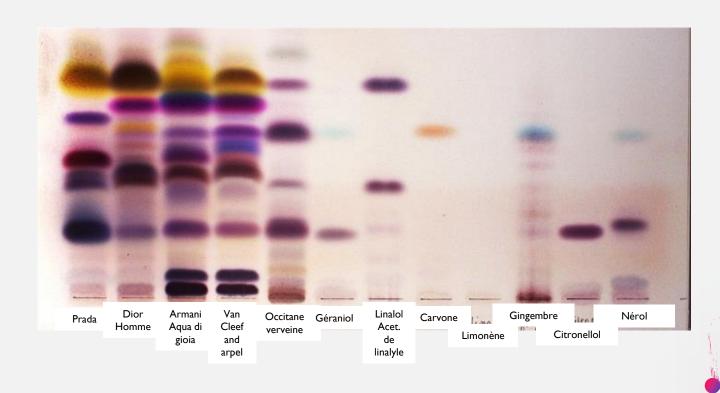


Analyse de parfums et HE



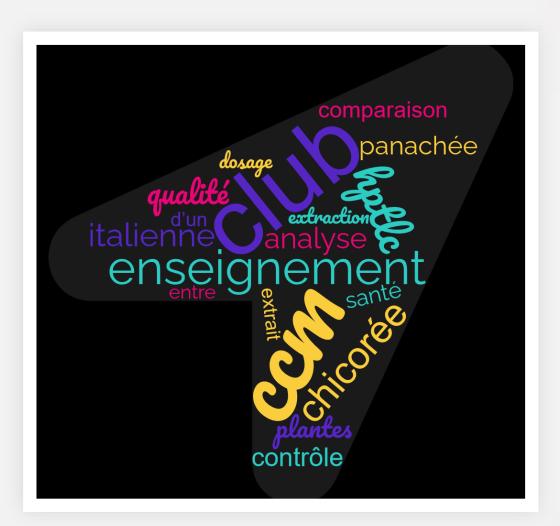
- Contrôle matières premières
- LP FoQCos/EcoNat
- Comparaison de chémotype
- Comparaison de parfums

- Dépôts des échantillons à tester:
 - •10 µl en bande de 8 mm, à 120 nl/s,
 - espace entre les bandes 4 mm
- Phase mobile :
 - •Toluène/AcOEt (95:5, v/v)
- Révélation
 - •Vaniline sulfurique

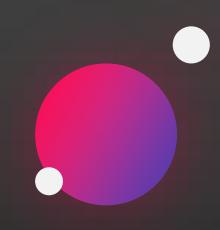


Bilan

- Pratiques variées :
 - Qualitative, profilage
 - Dosages
 - Bioautographie
- Matériels divers

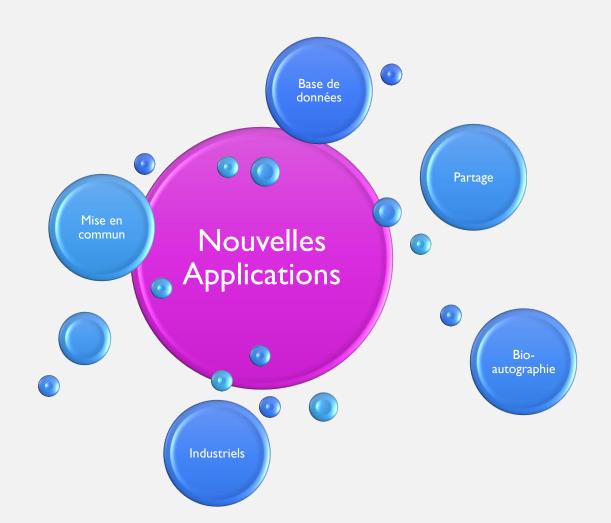


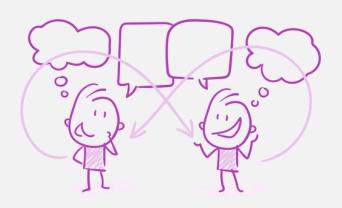




Kick off du GT

Attentes vis-à-vis du GT





Les discussions sont ouvertes!





Au nom du bureau du Club Un grand merci à ceux qui ont répondu présents

Join us!

Pr Leslie Boudesocque-Delaye

□ Leslie.boudesocque@univ-tours.fr

Merci