

# Utilisation de l'HPTLC dans un Laboratoire de Chromatographie Préparative

- Présentation d'ORIL Industrie
- Étapes de développement d'une nouvelle molécule
- Utilisation de la chromatographie préparative : Pourquoi?
- Méthodologie
- Exemple de développement d'une nouvelle molécule
- Conclusion

Recherche Industrielle et  
Production chimique

*Bolbec / Baclair*

Physico-chimie, galénique et  
pharmaco-cinétique

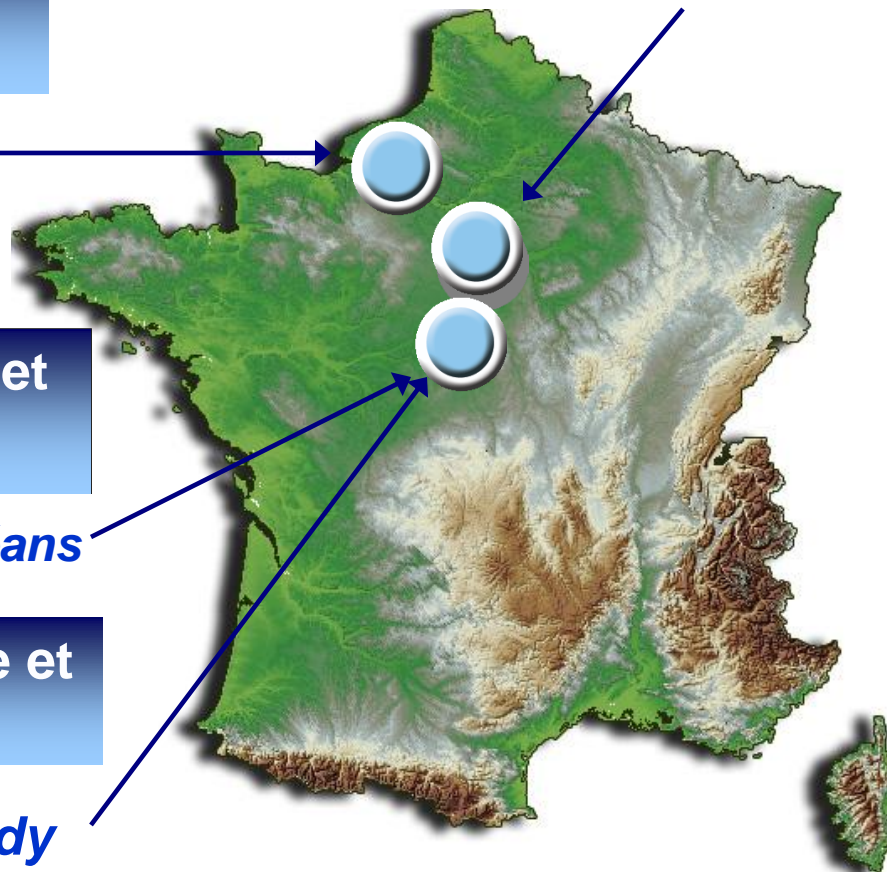
*Orléans*

Production pharmaceutique et  
Centre de Toxicologie

*Gidy*

Recherche fondamentale

*Suresnes et Croissy*



**2 sites :**

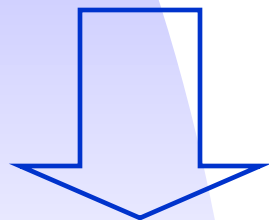


1992, 2000 et 2004, usine de Baclair

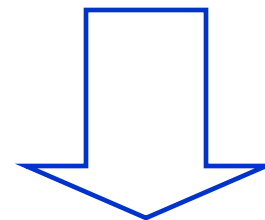




## Nos missions



***Produire 22  
Principes Actifs  
SERVIER***



***Optimiser les  
synthèses chimiques***

## Le CRI : Centre de Recherche Industrielle



**160** personnes

- Développement de nouveaux principes actifs
- Synthèse de lots toxicologiques et cliniques
- Fabrication de synthons pour la recherche expérimentale



# Les étapes de Développement d'une nouvelle molécule

Idée d'un nouveau médicament →

FABRICATION D'UN PREMIER LOT

TESTS PHARMACOLOGIQUES

TOXICOLOGIE

aigue - chronique - tératogénèse  
mutagénèse - cancérogénèse

PHARMACOLOGIE GENERALE

ETUDE GALENIQUE

PHASE I

Etude chez l'homme sain  
Tolérance humaine  
Pharmacologie humaine

PHASE II

Etude chez le malade  
Vérification de l'activité  
Détermination de la posologie

PHASE III

Réalisation d'études sur un grand nombre  
de malades et dans plusieurs pays

PHASE IV

Pharmacovigilance



Passage chez l'homme



AMM - Commercialisation

Durée Moyenne  
Durée Industrielle Totale

2 à 3 ans

8 à 12 ans

10 à 15 ans (protection industrielle de 20 ans)

Daniel DRON  
Développement Analytique  
ORIL INDUSTRIE





# Utilisation de la chromatographie préparative : pourquoi?

- Produire des lots spécifiques:
  - Lot de référence analytique
- Produire et purifier les premiers lots destinés à des études pharmacologiques et toxicologiques
- Purifier des intermédiaires de synthèse lors de problèmes de qualité.

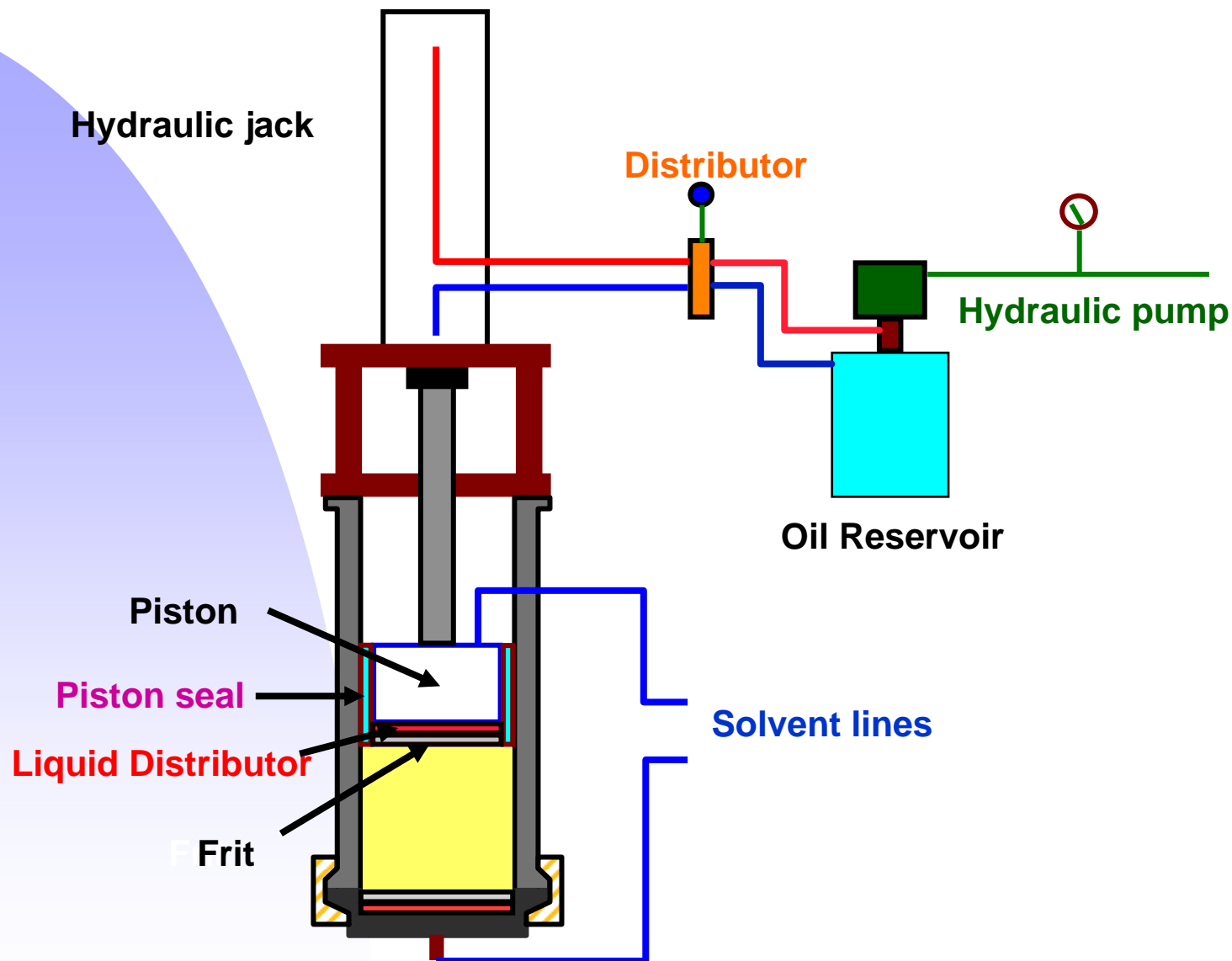
**ALLER AU PLUS VITE A L'OBJECTIF DE LIVRAISON DES PREMIERS LOTS AFIN DE METTRE LE PLUS RAPIDEMENT POSSIBLE UN NOUVEAU MEDICAMENT SUR LE MARCHE**

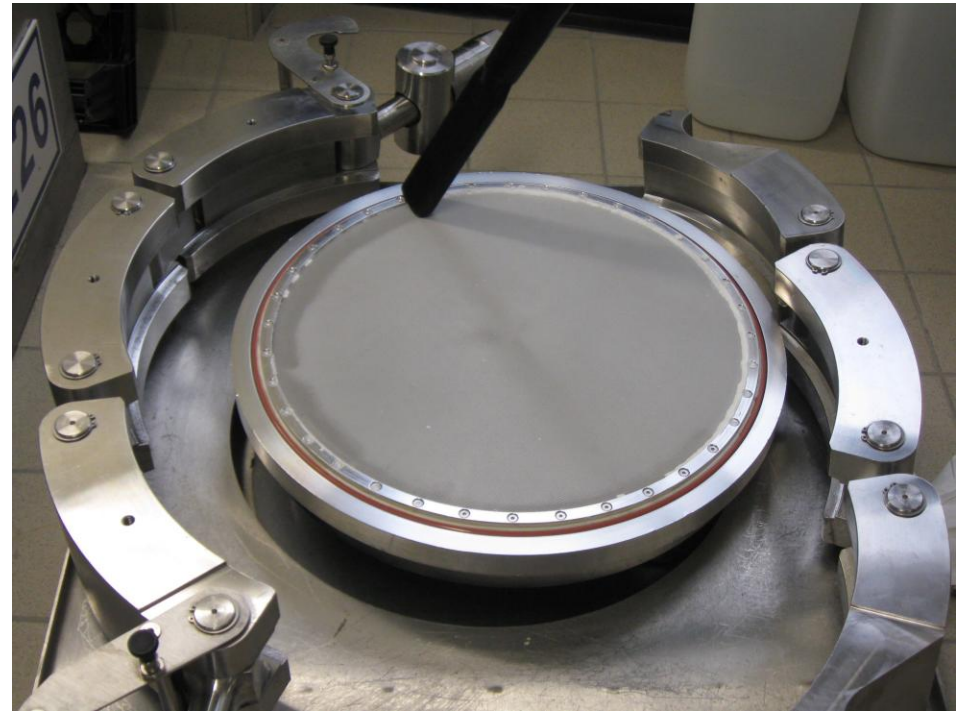
# Utilisation de la chromatographie préparative : pourquoi?

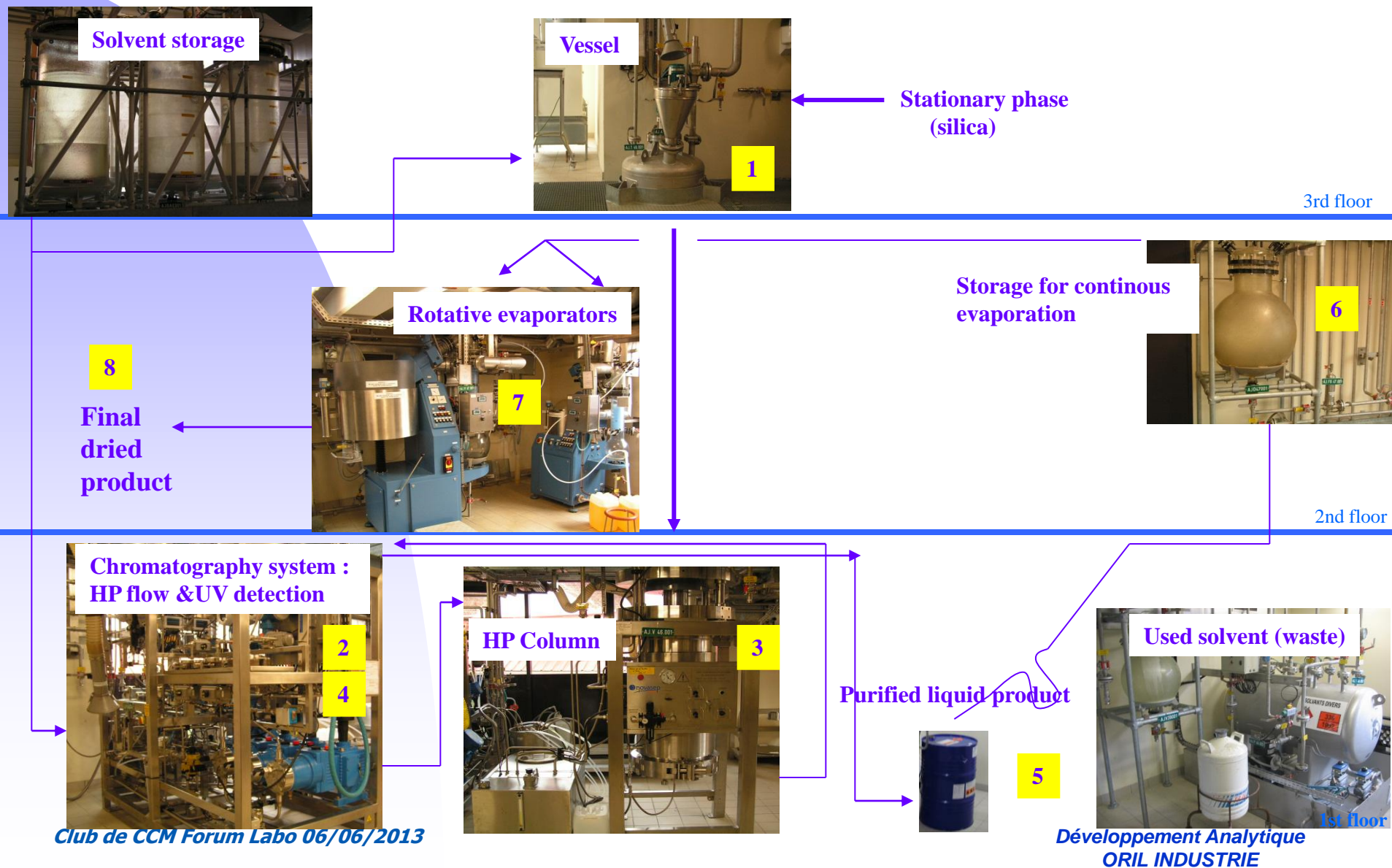
- Isoler et identifier les impuretés du principe actif ou dans un stade intermédiaire de sa synthèse:
  - pour la connaissance du procédé (un profil d'impuretés est une empreinte du schéma de synthèse utilisé). Toute impureté présente à une teneur supérieure à 0.1% doit être connue.
  - pour la validation de méthodes analytiques
  - pour le contrôle et l'étude d'effets purificateurs (justification des futures spécifications)
  - pour d'éventuelles études toxicologiques
  - pour des aides ponctuelles aux chimistes

Tout ceci est obligatoire pour constituer le dossier de connaissance du produit ainsi que le dossier d'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché)





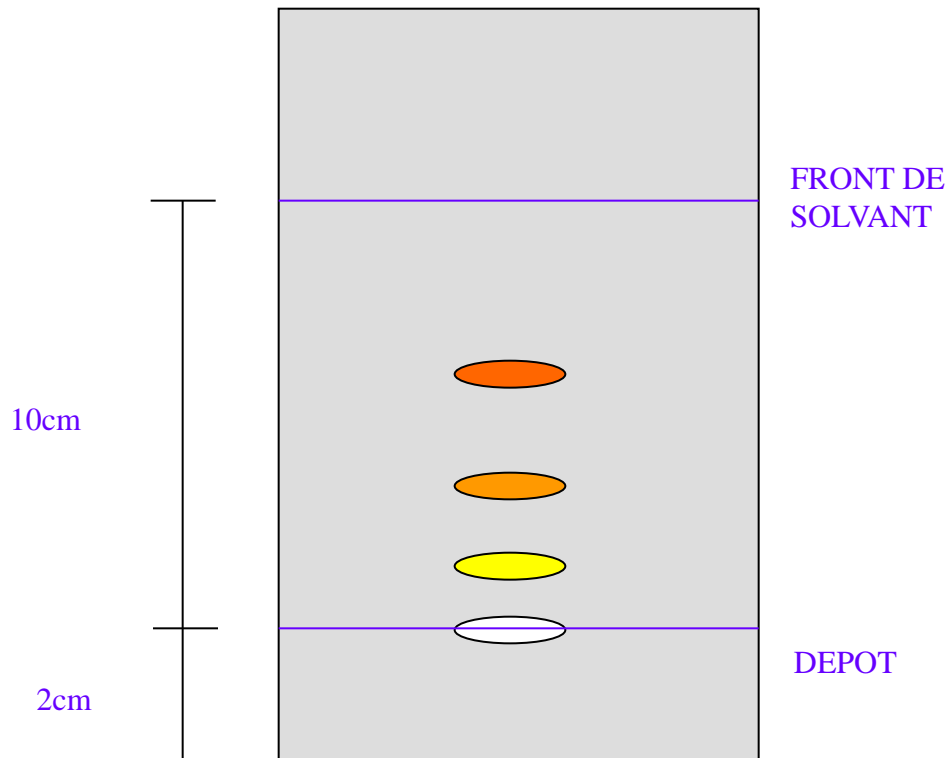




Le choix des conditions opératoires de purification passe avant tout par une bonne CCM:

- ▶ Choix de l'éluant et de la phase stationnaire (silice le plus couramment).
- ▶  $R_f$  adéquat. La composition de la phase mobile est correcte si la séparation des composés est suffisante et si le  $R_f$  du composé à isoler est proche de 0,2.

- ▶ Choix du solvant pour solubiliser le produit à injecter.

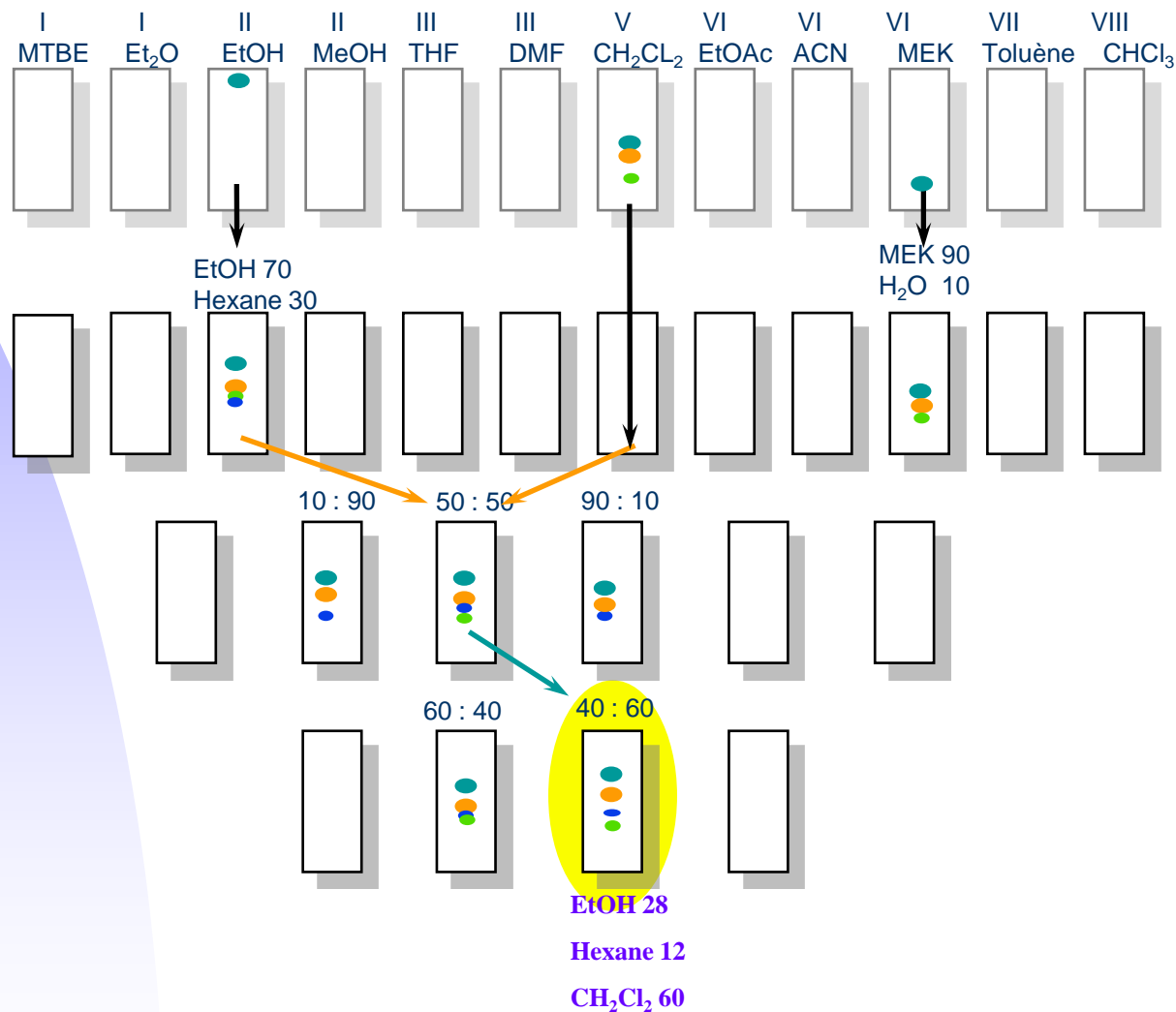


étape 1:  
solvants purs

étape 2:  
diminuer (Hex) ou  
augmenter (H<sub>2</sub>O)  
la force éluante

étape 3:  
essayer les  
mélanges (+ acides  
et bases)

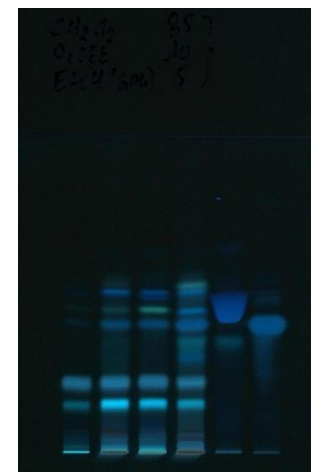
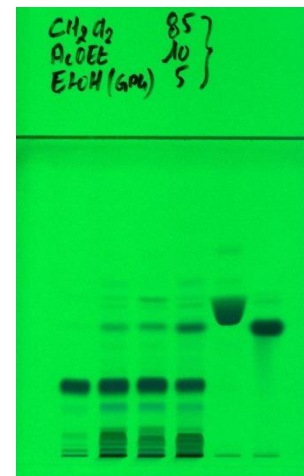
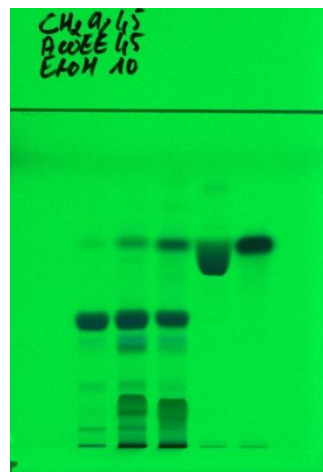
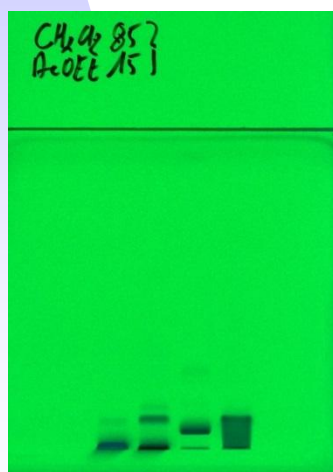
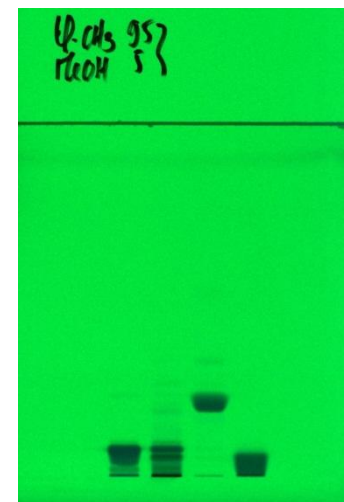
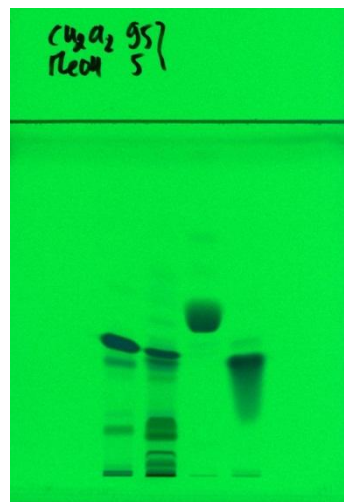
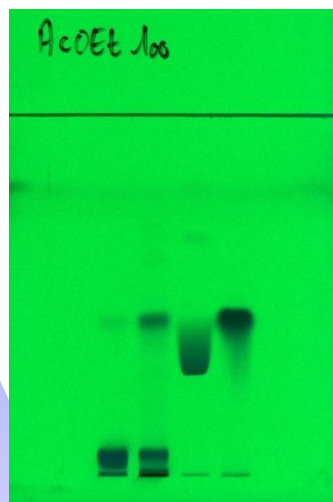
étape 4:  
ajustement final

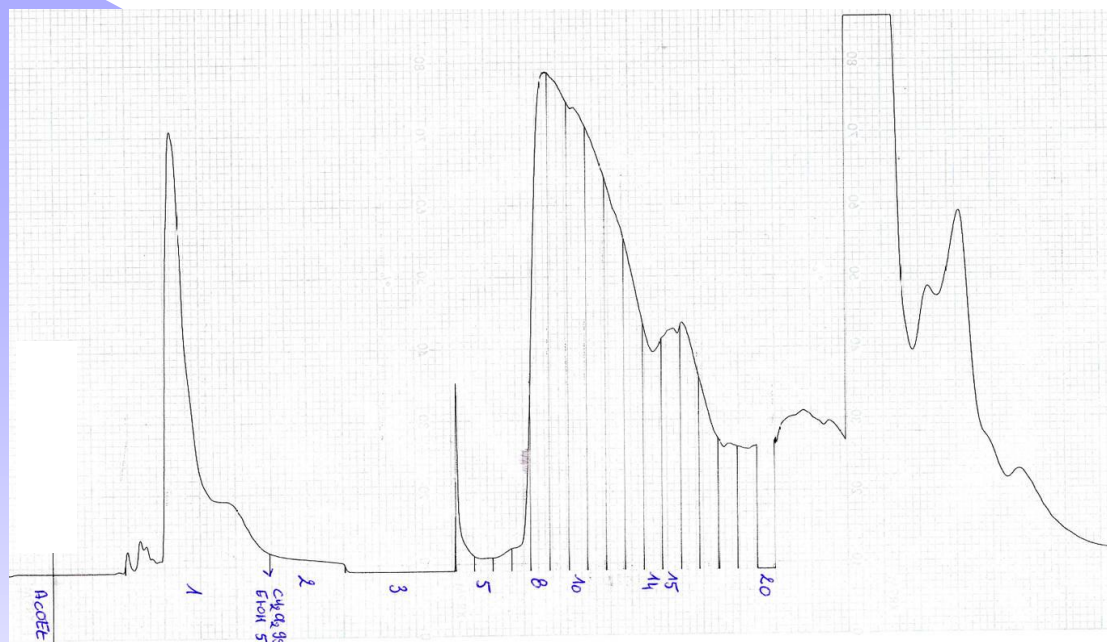






# Exemple du développement d'une nouvelle molécule





Colonne : Novasep diamètre 50 mm

Phase Stationnaire: Silice  
ZEOPREP 15-25  $\mu$ m 300 g

Packing: 40 bars

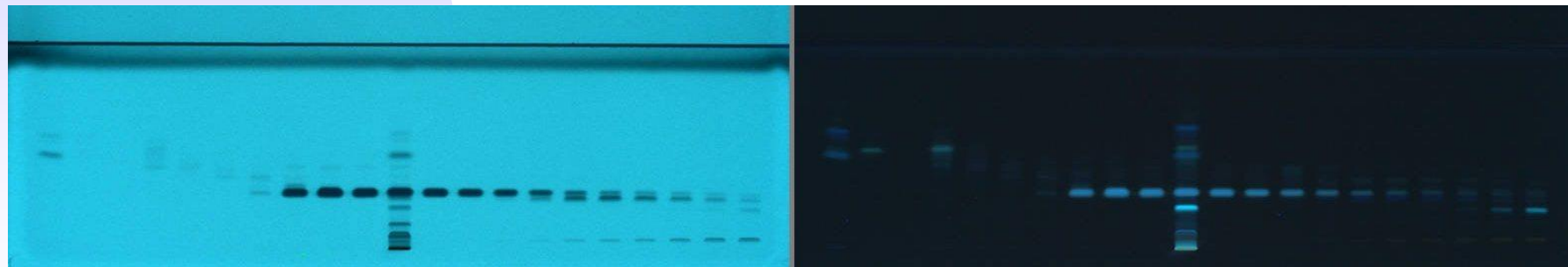
Eluant: Acétate d'éthyle 100 puis  
Dichlorométhane - Ethanol 95-5

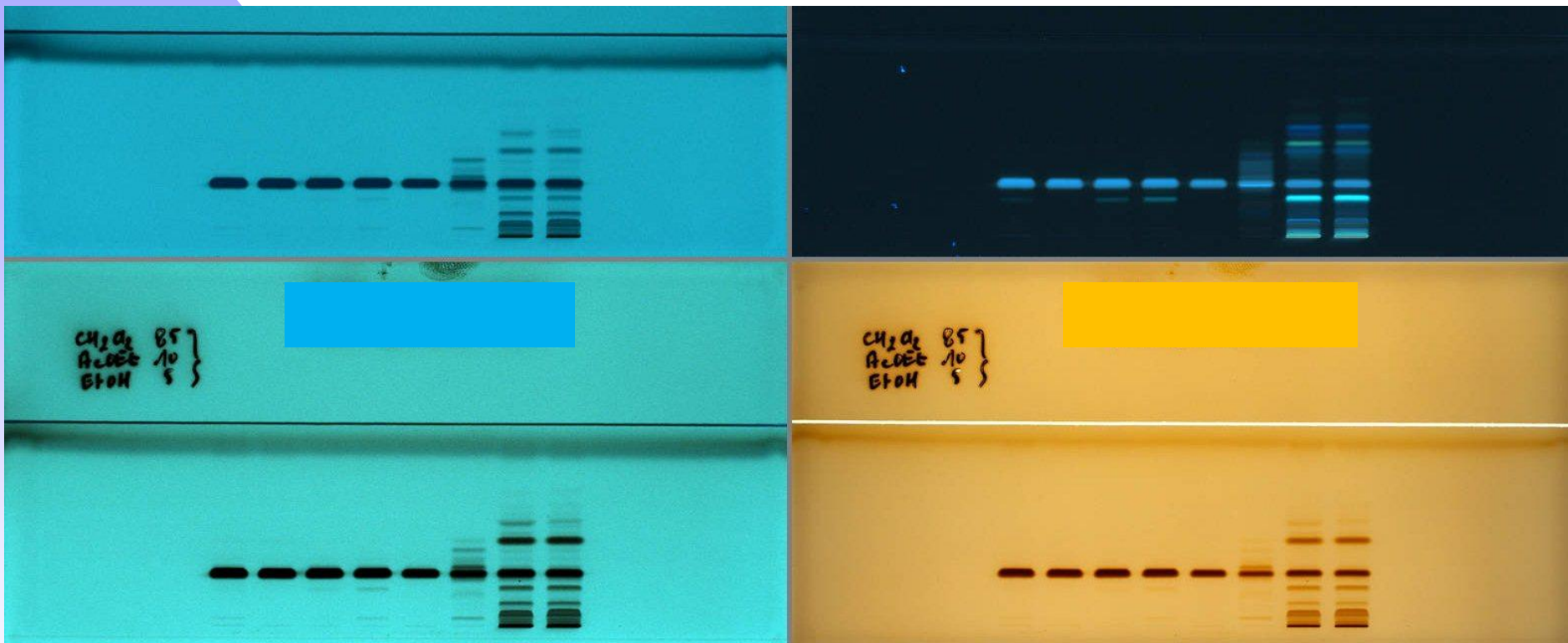
Débit : 120 ml/min

Injection : 7,5 de brut

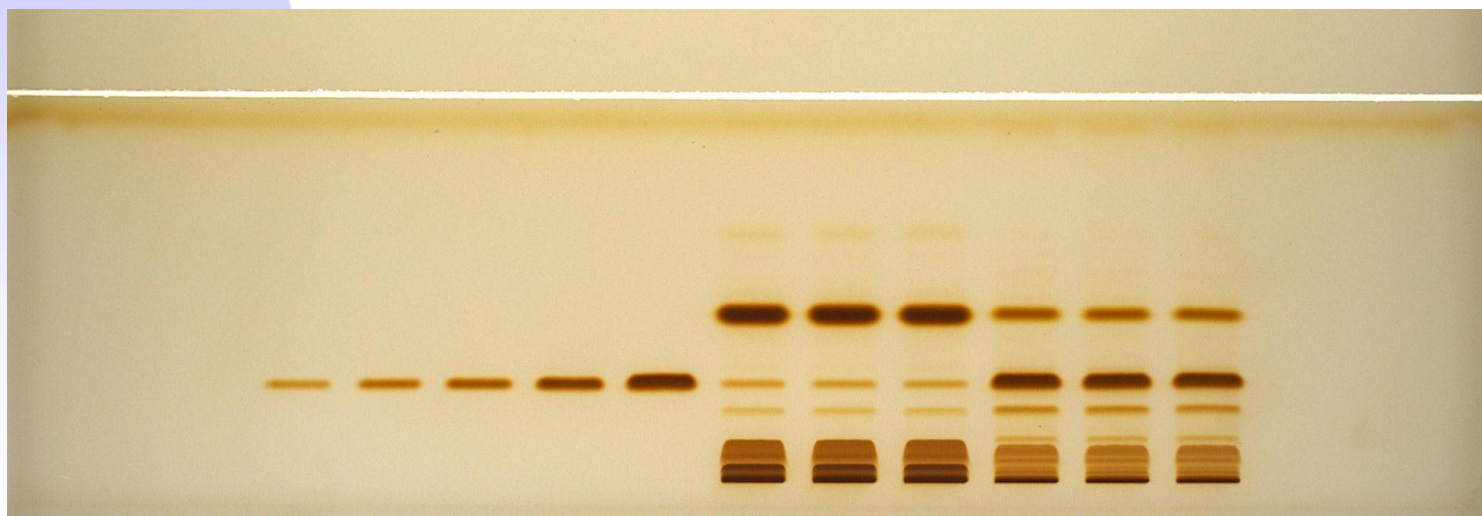
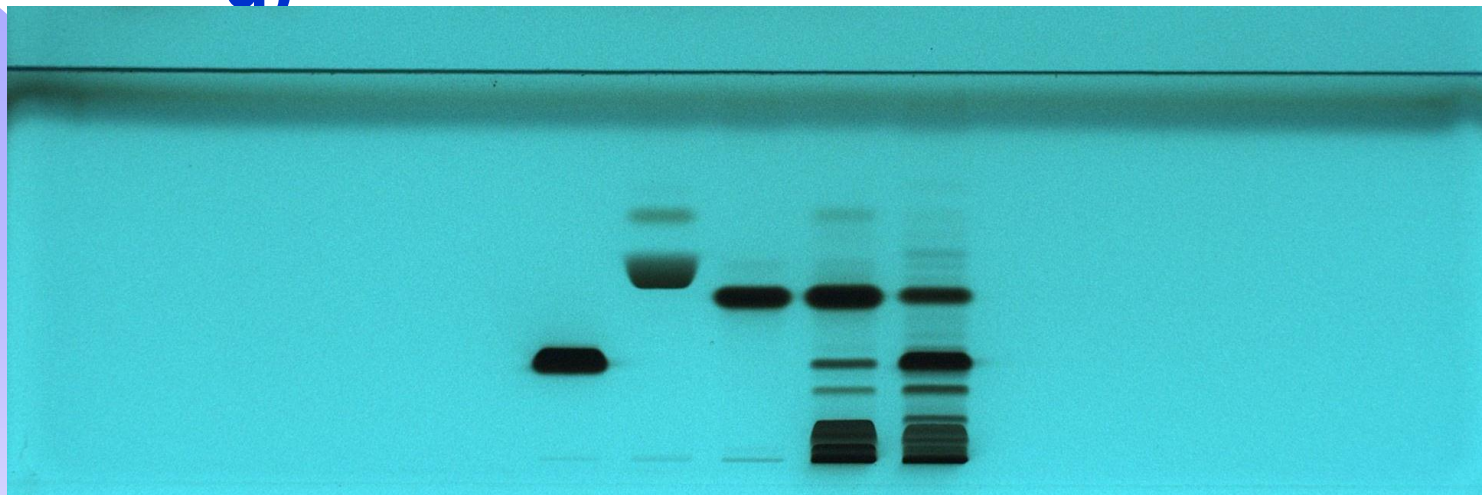
Durée : 60 min

Détection : UV 330 nm

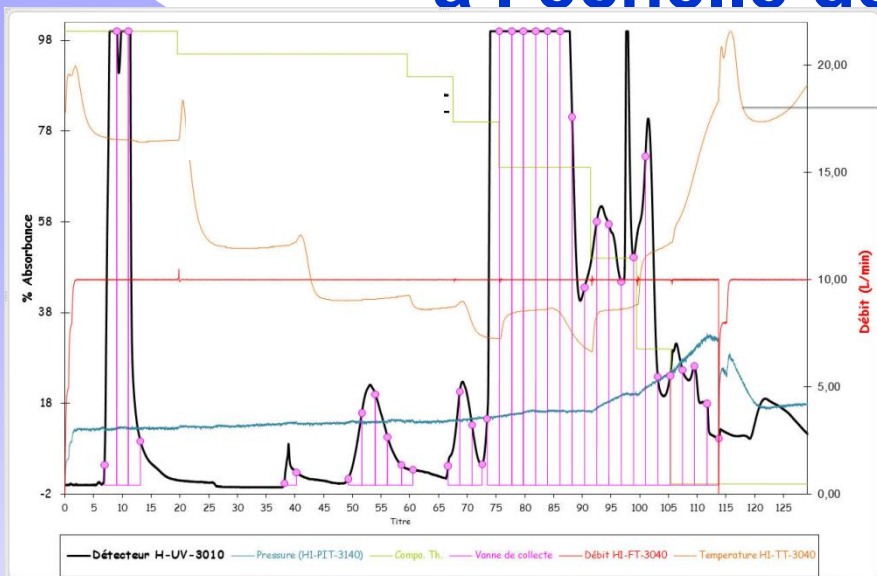




# Première opération de transposition à l'échelle de la production (500 a)



# Première opération de transposition à l'échelle de la production



Colonne : Novasep diamètre 450 mm

Phase Stationnaire: Silice ZEOPREP 15-25  $\mu\text{m}$   
40 kg

Packing: 40 bars

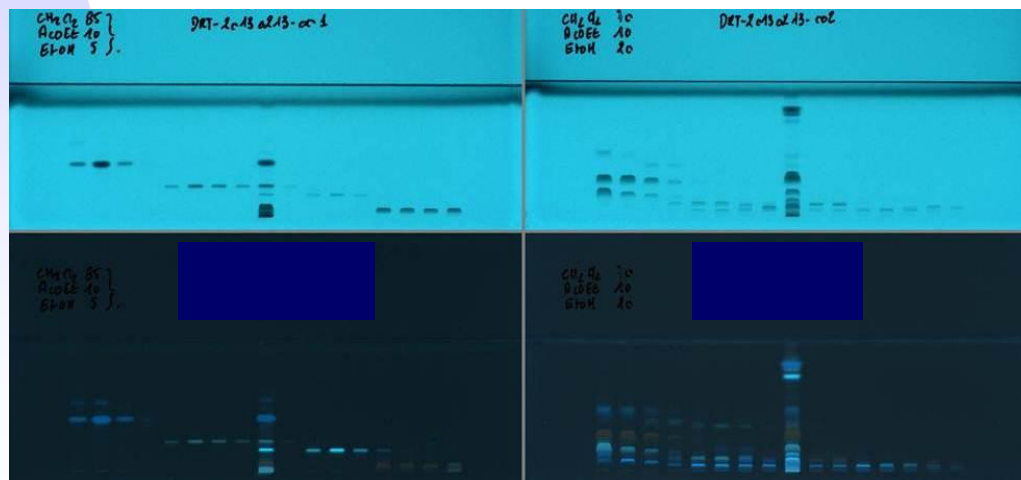
Eluant: Acétate d'éthyle 100 puis  
Dichlorométhane – Ethanol 95-5 et 50-50

Débit : 10 l/min

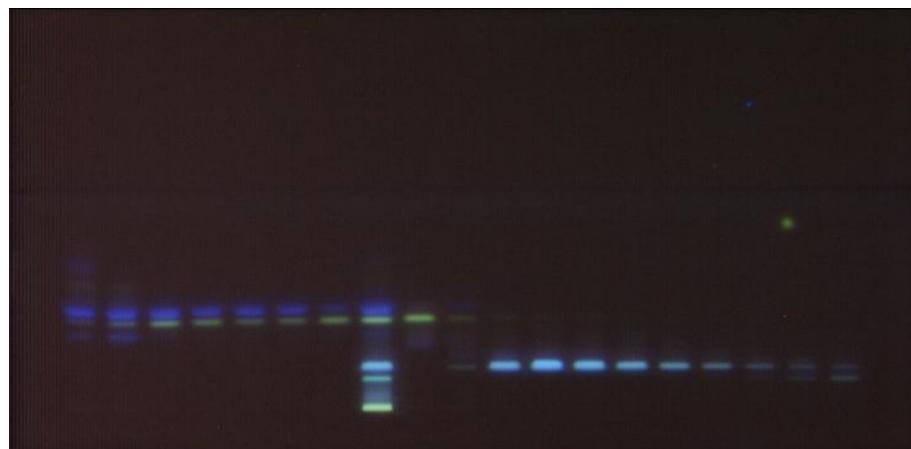
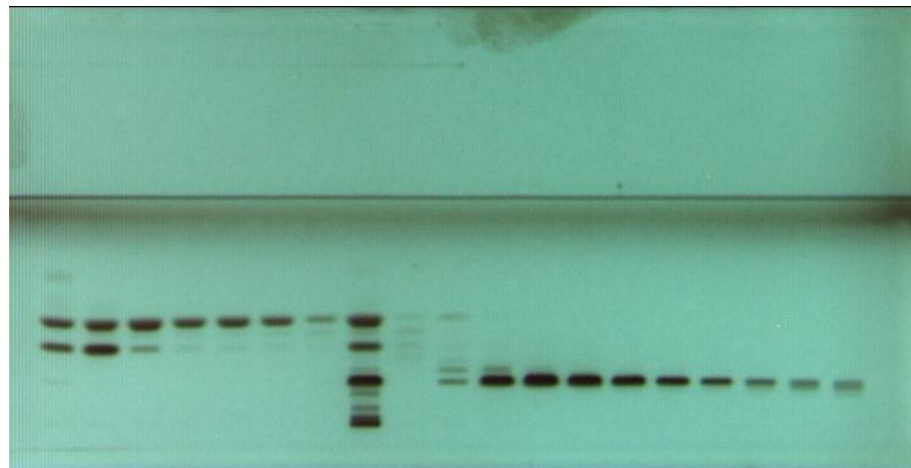
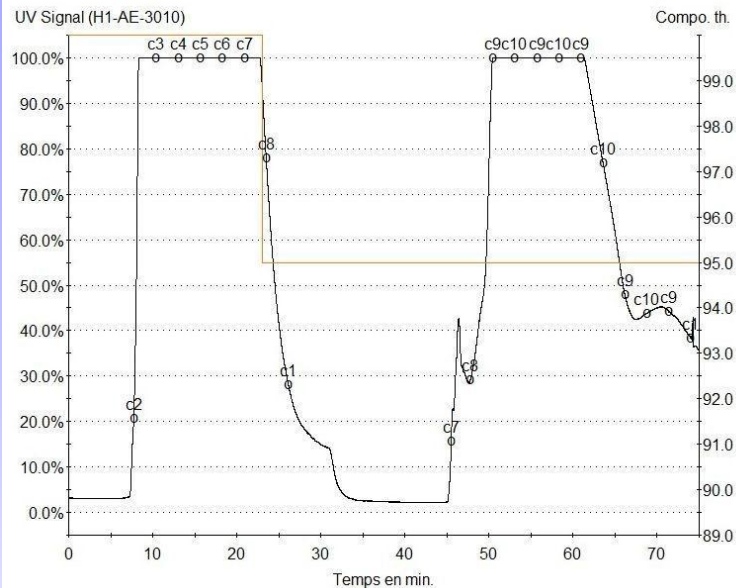
Injection : 500 g de brut

Durée : 120 min

Détection : UV 330 nm



# Seconde opération de transposition à l'échelle de la production ( 1 Ka)



Colonne : Novasep diamètre 450 mm

Phase Stationnaire: Silice ZEOPREP 15-25 µm 40 kg

Packing: 40 bars

Eluant: Acétate d'éthyle 100 puis Dichlorométhane – Ethanol 95-5

Débit : 10 l/min

Injection : 1 Kg de brut

Durée : 70 min

Détection : UV 330 nm

- La CCM est une technique permettant rapidement la mise au point d'une méthode de séparation pour transposition à l'échelle préparative,
- L'automatisation des systèmes (déposeur, densitomètre) est une évolution importante dans la mise en œuvre de la technique
- L'HPTLC permet d'obtenir une meilleure résolution des composés ce qui en fait une technique fiable et robuste
- Le couplage HPTLC et automatisation permet d'analyser jusqu'à 30 échantillons en 30 minutes,
- Gain en temps estimé à environ une semaine par stade travaillé (Étude effectuée sur 22 projets depuis 3 ans). Généralisation des synthèses « rapides » pour aller au plus vite à l'objectif de livraison en stade pré-clinique.



# Merci de votre attention

