



Club de CCM  
Forum Labo  
28 mars 2018

**Amélie HAVARD**

# L'HPTLC-MS, un outil incontournable sur un site de production de principes actifs pharmaceutiques

# Sommaire



- Présentation d'Oril Industrie et des Spécialités Analytiques
- Mise en place du couplage TLC/HPTLC-MS
- Différentes applications sur des produits en développement à ORIL
- Conclusion

Présentation

# ORIL Industrie



**2 sites de production**

- Bolbec
- Baclair

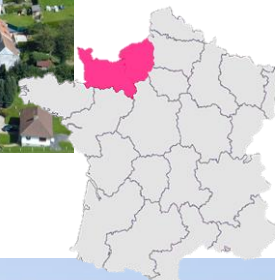


**800 collaborateurs**



**20 principes actifs**  
et 150 intermédiaires

**50 ans d'expérience en chimie fine**



# ORIL Industrie

## Production



Réacteurs de 10 L à 10 000 L

## Centre de Recherche Industriel



**170** collaborateurs

Process et développement analytique

Production pilote

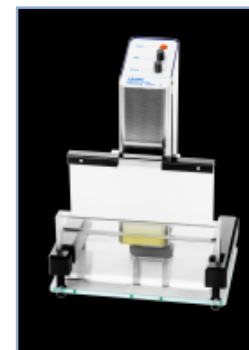
Réglementaire

- Développement Chimique
- Développement Analytique
- Pilote
- Spécialités

## Spécialités Analytiques

- Purifier des intermédiaires de synthèse
- Purifier des lots de PA destinés à des études toxicologiques, galéniques et cliniques
- Isolement des impuretés d'intérêts
- Produire des lots de référence de PA ou d'impuretés

### 1) Evaluation





## 2) Mise au point



Colonne 50 mm de diamètre (Novasep)



Colonne 110 mm de diamètre (Novasep)

## 3) Production



Colonne 200 mm de diamètre (Novasep)



Colonne 450 mm de diamètre (Novasep)

# Spécialités Analytiques

A venir ...

New!



SMB 80 mm (Novasep)

New!



SFC 80 mm (Novasep)

New!



Evaporateur à film mince (France Evaporation)

## Spécialités Analytiques

- Identification par RMN et/ou MS de tous les intermédiaires de synthèse et PA
- Identification d'impuretés d'intérêts
- Développement de l'analyse quantitative par RMN en 1D et 2D



Xévo G2S Q-TOF (Waters)



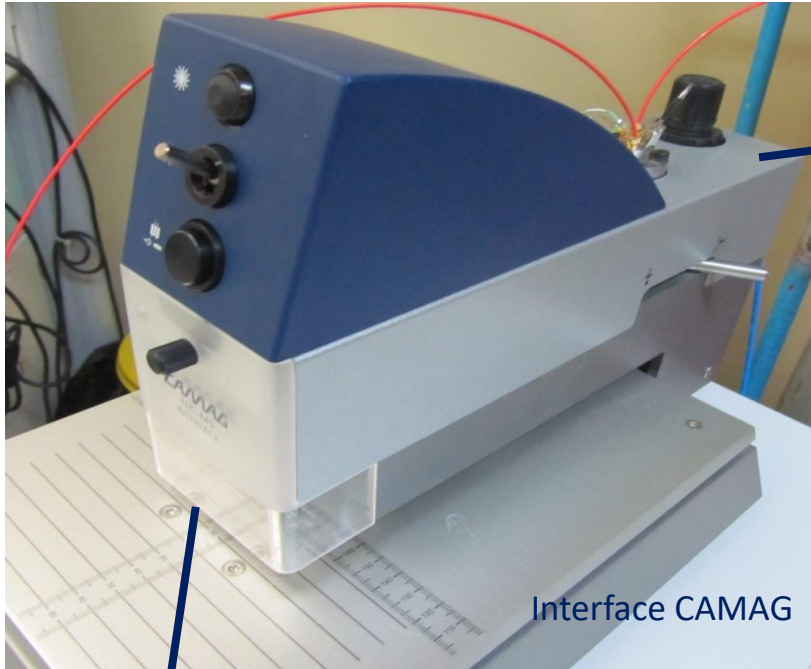
Q Exactive + (Thermo Scientific)



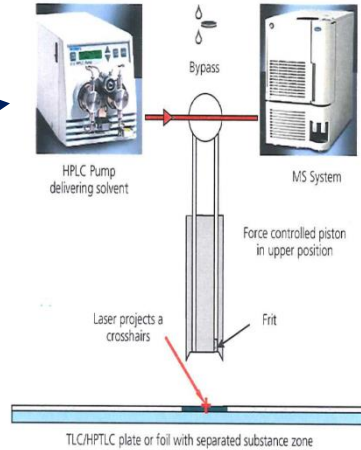
RMN 400 MHz (Bruker)



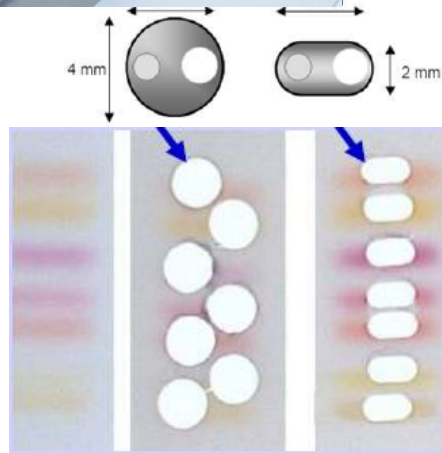
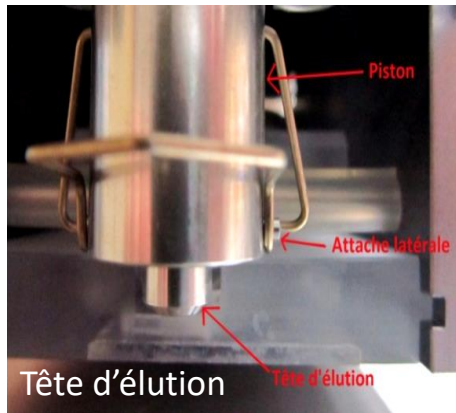
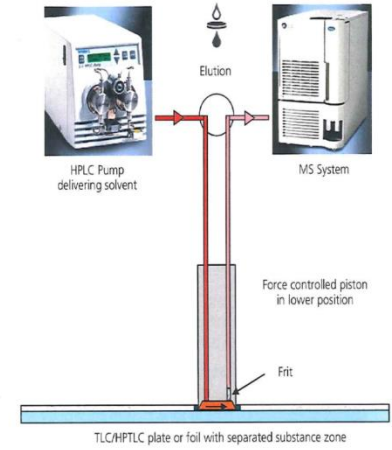
# L'interface



## Mode Bypass

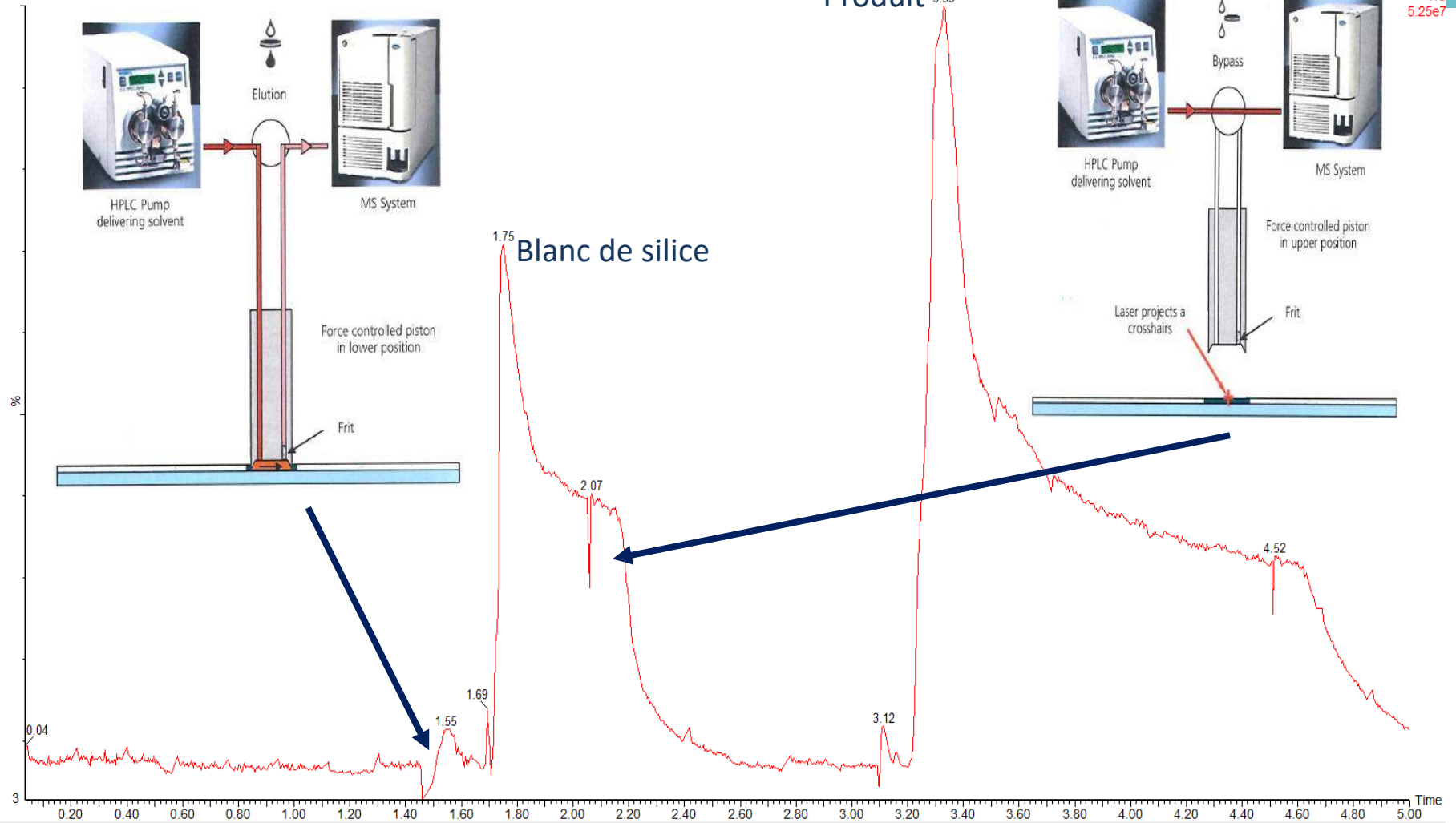


## Mode Elution



# Déroulement d'une analyse

ms06\_p147\_04



1: TOF MS ES-TIC 5.25e7

Obtention d'un TIC

## Contexte



- Lot de C en dérive car rendement très faible par rapport à l'historique
- Volonté de récupérer le composé C dans le milieu réactionnel (MR) 62 kg
- Identification des différentes impuretés

## Optimisation plaque HPTLC

Plaque HPTLC Si60 F254s MERCK  
20×10 cm

10 g/L, volume : 1 µL et 3 µL

50/50 MCH/AcOEt

Révélation : UV 254 nm



Plaque HPTLC du brut

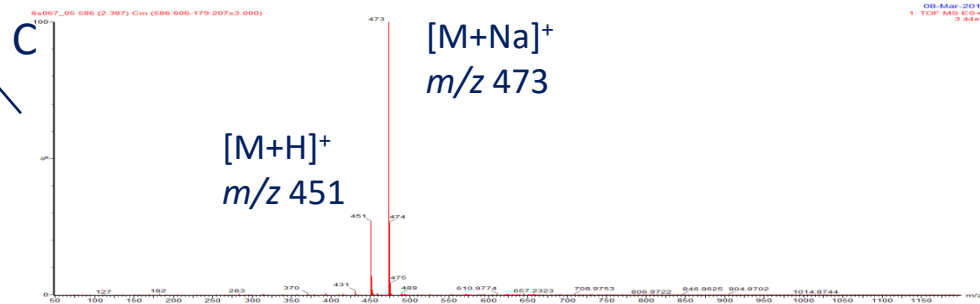
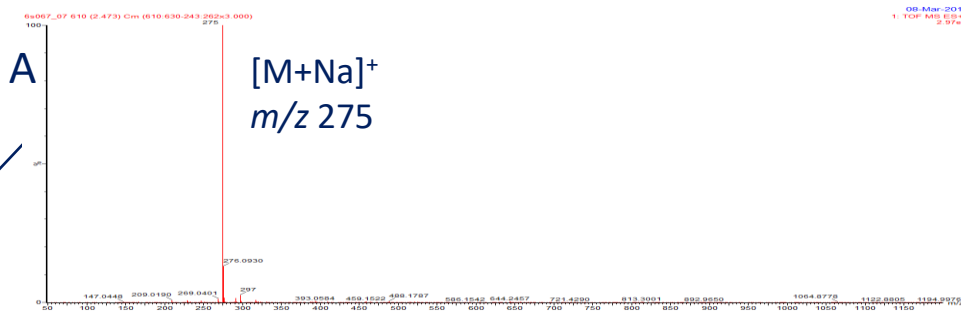
# Analyse par HPTLC-MS



Plaque HPTLC du brut  
(dépôt 1 $\mu$ L et 3 $\mu$ L)

0,2 mL/min à 50/50 H<sub>2</sub>O/MeOH

Xévo G2S Q-TOF  
Electrospray positif  
Full MS

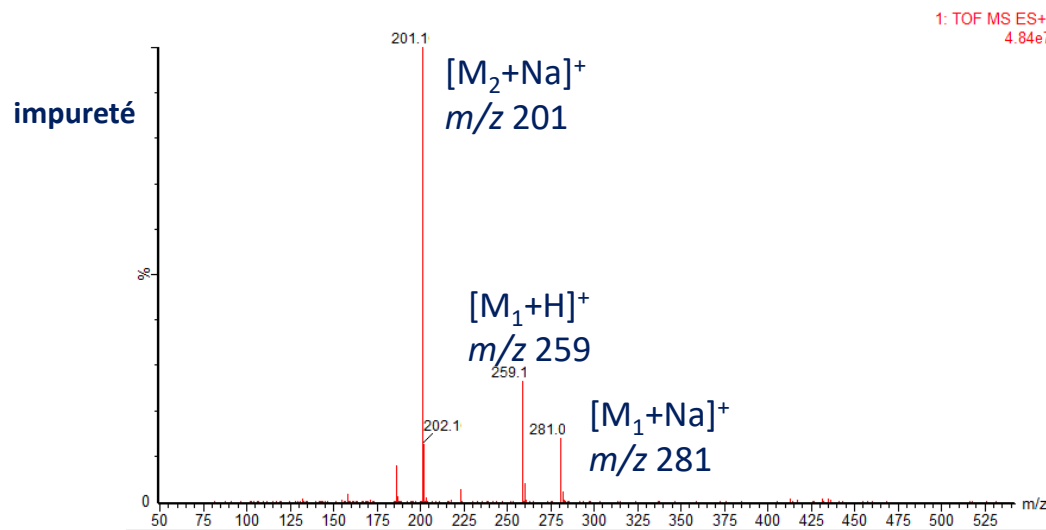


# Analyse par HPTLC-MS



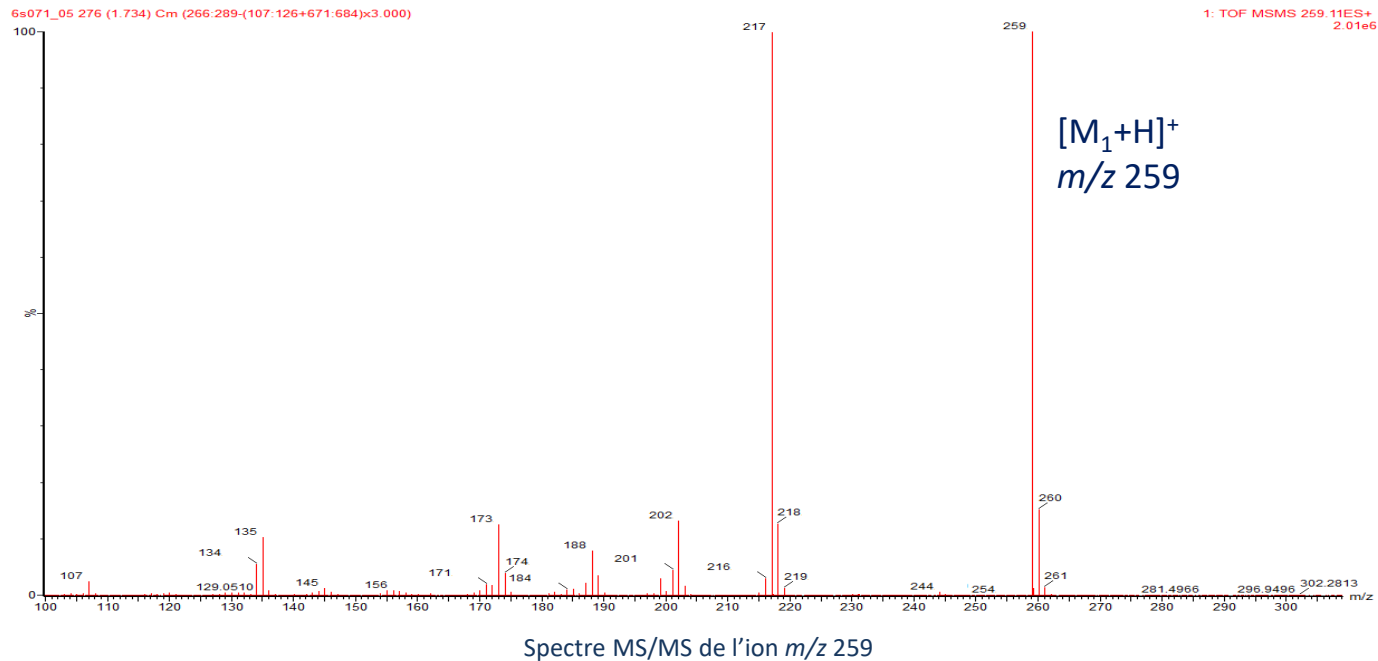
Plaque HPTLC du brut (à gauche) et de composé D (à droite)

0,2 mL/min à 50/50 H<sub>2</sub>O/MeOH  
Xévo G2S Q-TOF  
Electrospray positif  
Full MS





# Analyse par HPTLC-MS/MS de l'impureté



0,2 mL/min à 50/50 H<sub>2</sub>O/MeOH

Xévo G2S Q-TOF

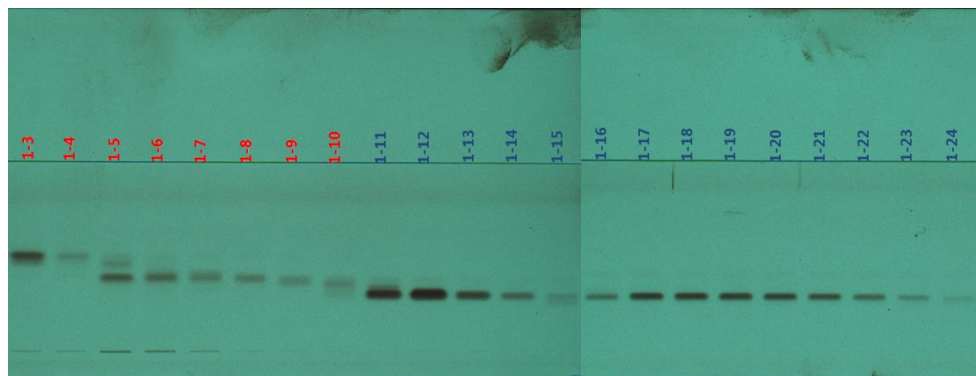
Electrospray positif

MS/MS avec une rampe d'énergie de collision 10 à 40 V

## Transposition TLC à la production sur colonne



Colonne 450 mm de diamètre (Novasep)



Suivi purification

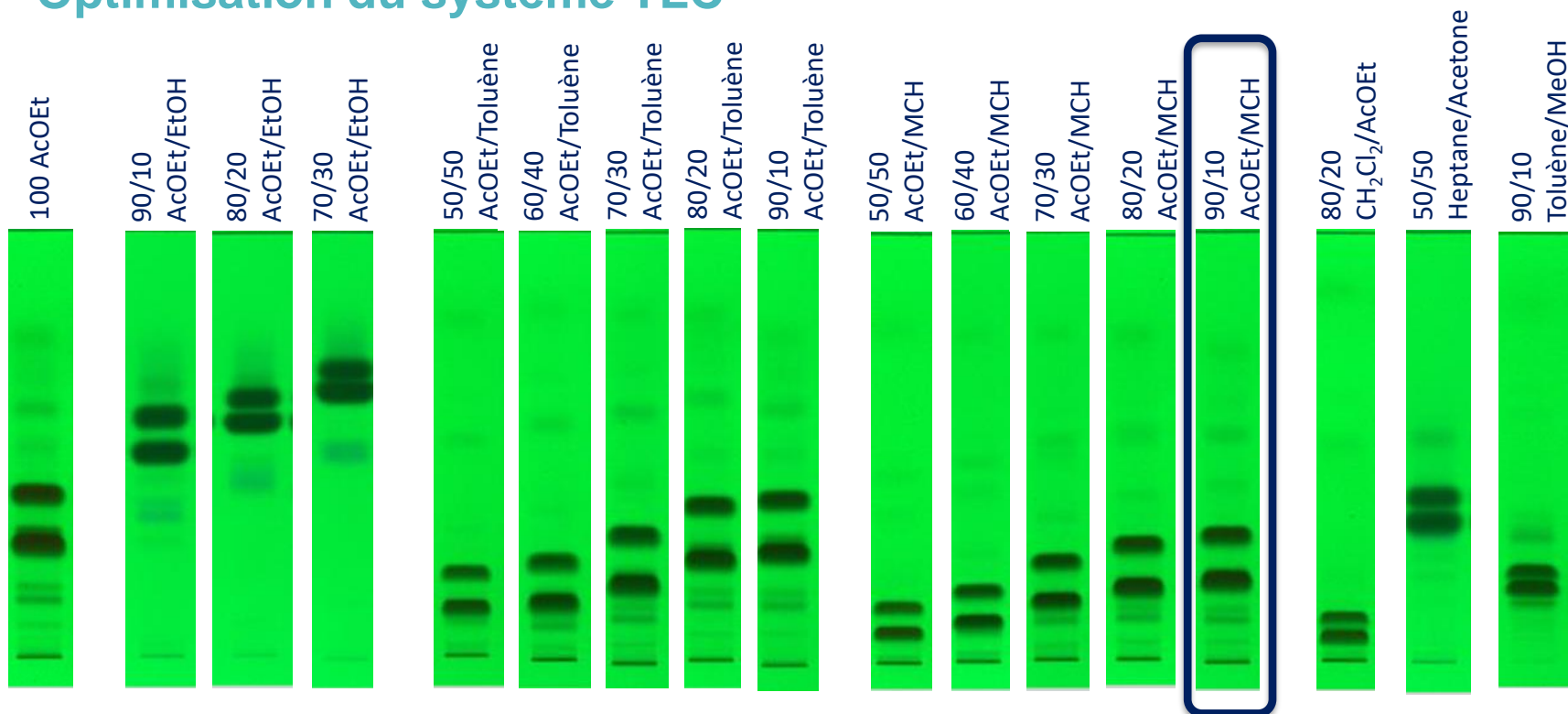
## Gains

- Récupération de 6 kg de composé C : gain 45 k€
- Récupération de 26 kg de composé A : gain 195 k€

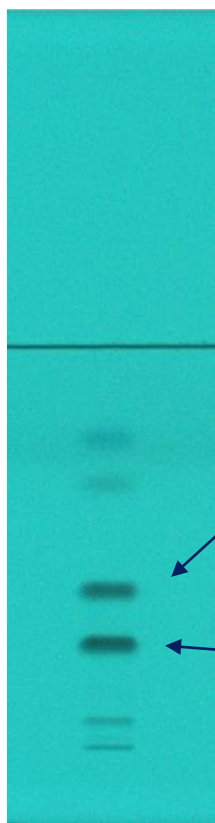
## Contexte

- Purification d'un PA pour obtenir une pureté en isomère Z > 99 %, une teneur en isomère E < 1 % et autres impuretés < 0,15 %
- Recherche du produit cible
- Identification des différentes impuretés

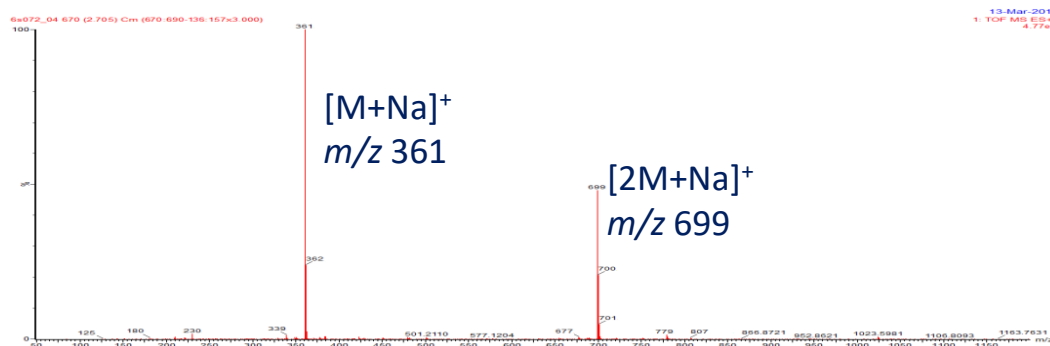
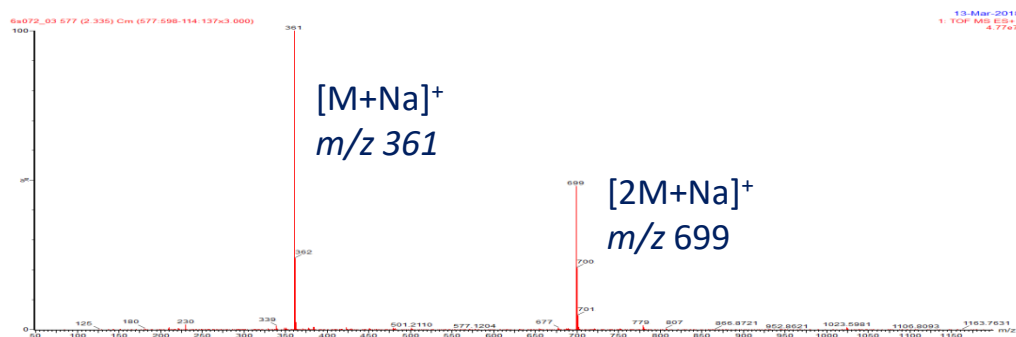
## Optimisation du système TLC



# Analyse par HPTLC-MS



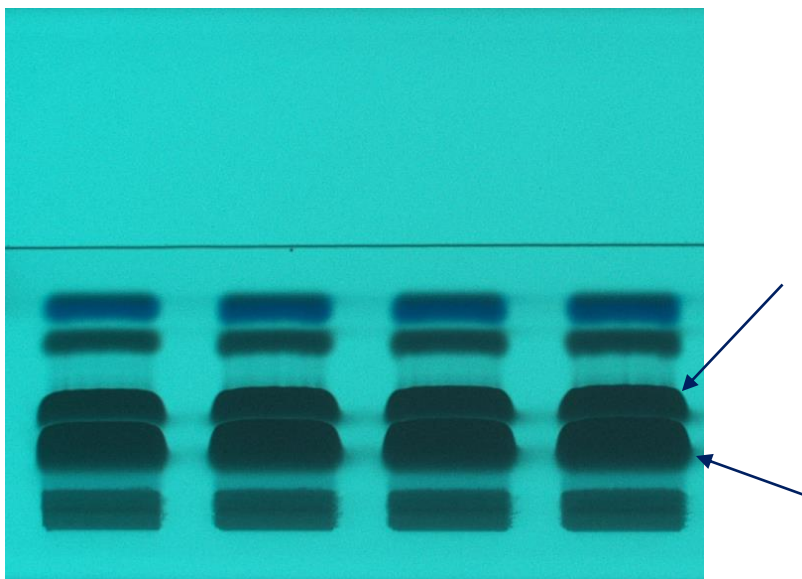
Plaque HPTLC du lot



Plaque HPTLC Si60 F254s  
MERCK 10x10 cm  
10 g/L, volume : 1 µL  
90/10 AcOEt/MCH  
Révélation : UV 254 nm

0,2 mL/min à 50/50 H<sub>2</sub>O/MeOH  
Xévo G2S Q-TOF  
Electrospray positif  
Full MS

## Analyse par HPTLC-RMN



Plaque HPTLC du lot

Plaque HPTLC Si60 F254s MERCK 20×10 cm  
100 g/L, volume : 15 µL  
90/10 AcOEt/MCH  
Révélation : UV 254 nm

0,2 mL/min à 100 % MeOH  
Mise à sec  
Tube RMN : CDCl<sub>3</sub> + NaOH

CONFIDENTIAL DATA

Spectre <sup>1</sup>H obtenu pour l'isomère E

CONFIDENTIAL DATA

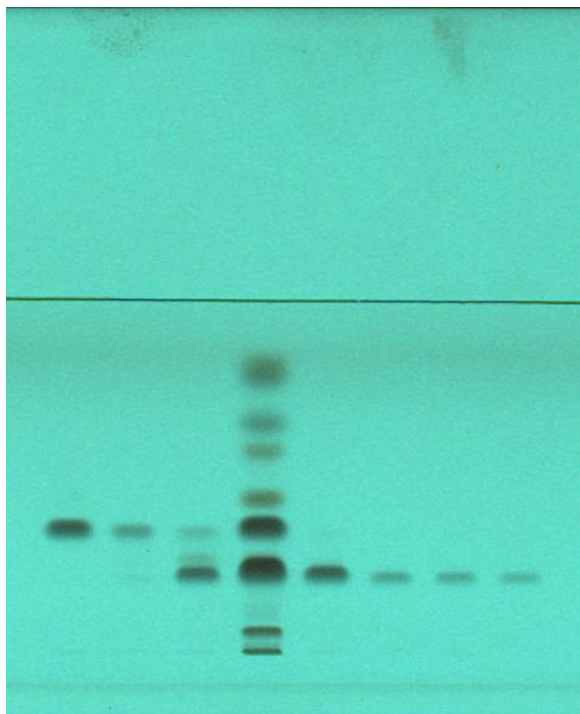


Spectre <sup>1</sup>H obtenu pour l'isomère Z



# Transposition et optimisation du système

## 1<sup>ère</sup> purification



Suivi purification

Plaque HPTLC Si60 F254s MERCK  
10×10 cm  
90/10 AcOEt/MCH  
Révélation : une nuit à l'iode +  
éclairage à 254 nm

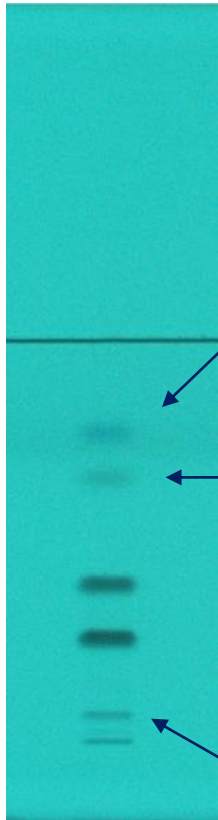
## 2<sup>ème</sup> purification



Plaque TLC du brut

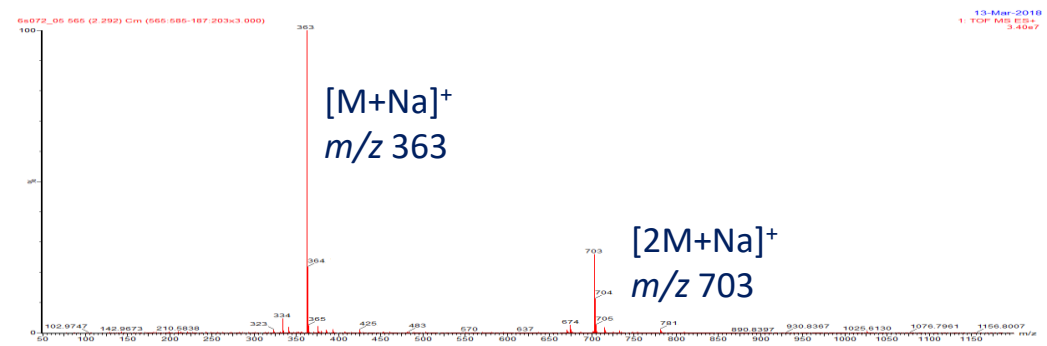
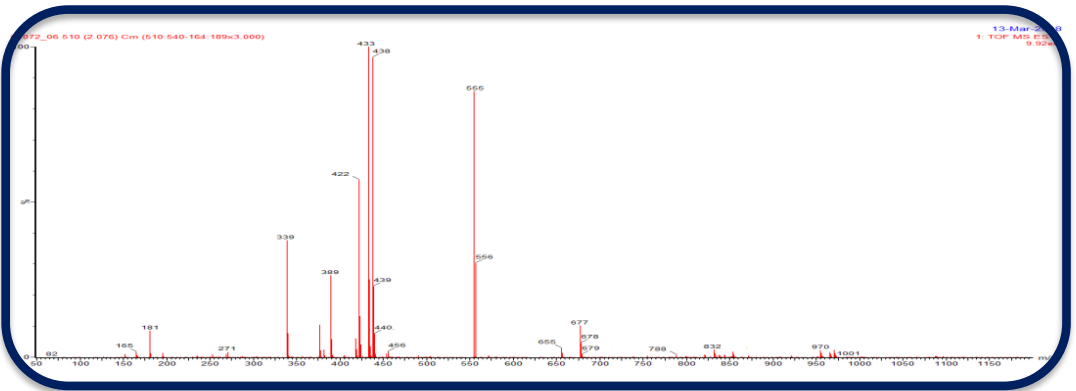
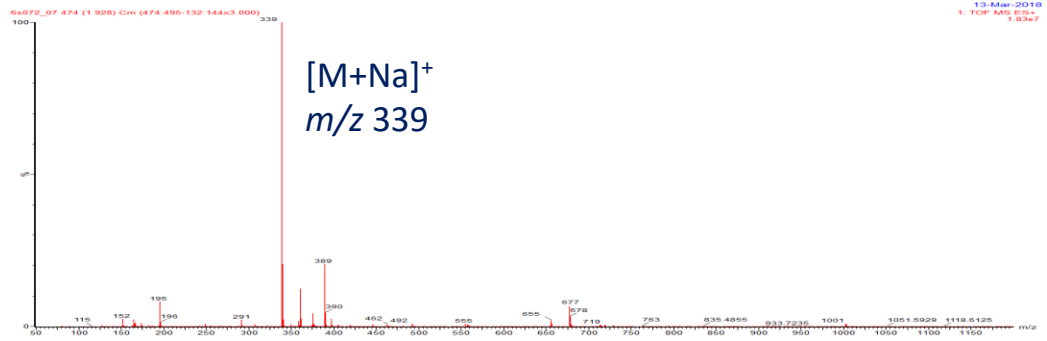
Plaque HPTLC Si60 F254s MERCK  
10×10 cm  
95/5 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH  
Révélation : UV 254 nm

# Analyse par HPTLC-MS



Plaque HPTLC du lot

Plaque HPTLC Si60 F254s MERCK  
10×10 cm  
10 g/L, volume : 1 µL  
90/10 AcOEt/MCH  
Révélation : UV 254 nm

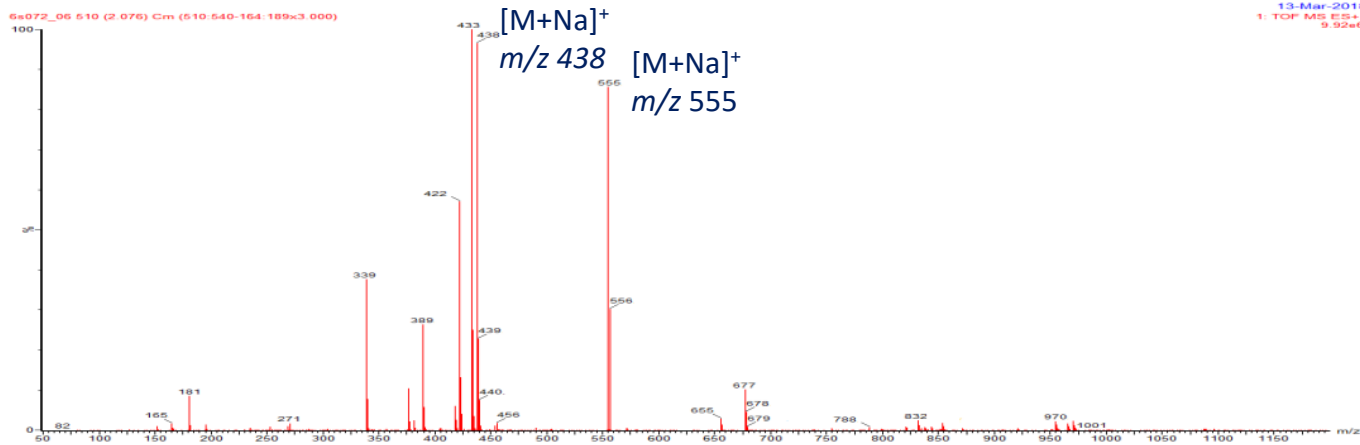


13-Mar-2018  
1: TOF MS ES+  
1.83e7

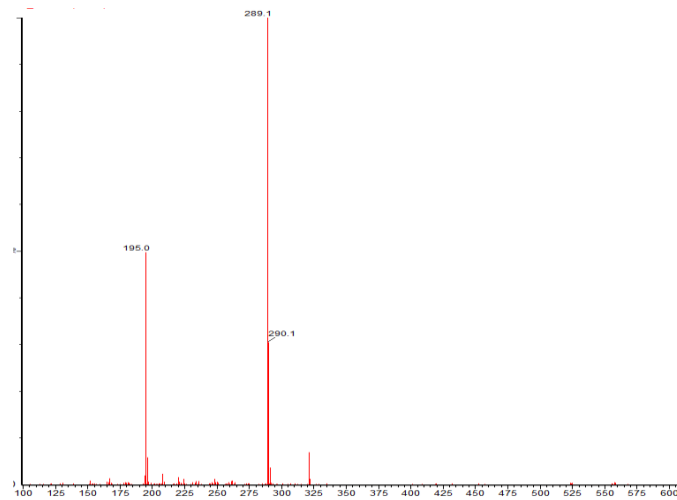
13-Mar-2018  
1: TOF MS ES+  
9.92e7

13-Mar-2018  
1: TOF MS ES+  
3.40e7

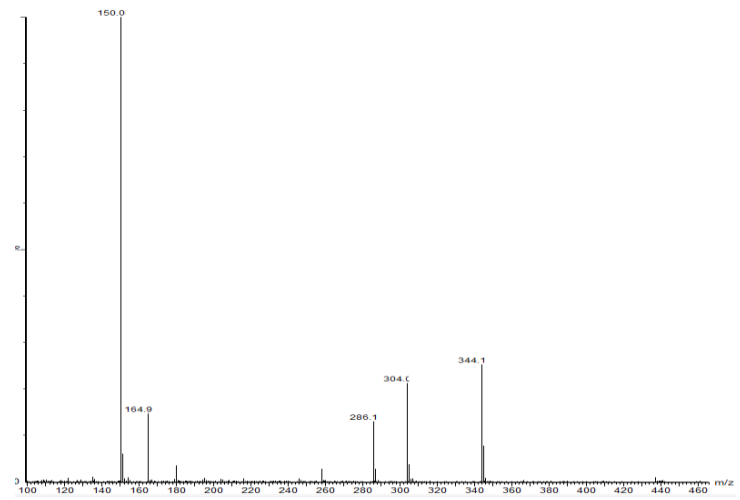
# Analyse par HPTLC-MS/MS sur l'une des impuretés



Spectre full MS de l'impureté



Spectre MS/MS de l'ion m/z 555



Spectre MS/MS de l'ion m/z 438

Xévo G2S Q-TOF  
ESI +  
MS/MS avec une rampe  
d'énergie de collision 40  
à 60 V

- L'interface est facilement transportable
- Couplage simple à mettre en œuvre
- Non limité par les solvants de mise en solution
- Technique complémentaire à l'HPLC-MS
- Gain de temps pour le développement d'une nouvelle entité chimique
  
- Continuer à promouvoir la technique

# 20 ans Club de CCM

Merci pour  
votre  
attention



Merci Pierre de nous avoir transmis  
ta passion, qui nous dépanne dans  
bien des situations !