



Les Solutions par Évaporation Rapide pour les Processus d'Extraction des Produits Naturels

Par John Hester, Ingénieur Principal en R&D – Responsable de la banque d'échantillons, Université de Mississippi – École de Pharmacie, The National Center for Natural Product Research - jphester@olemiss.edu

Introduction

Il est reconnu qu'il est difficile de travailler avec les produits naturels, en tant que candidats pour la création de produits pharmaceutiques. La collecte, la préparation, l'extraction et le séchage sont des étapes lourdes en terme de main d'œuvre, et difficilement reproductibles en terme de processus. Dans un portefeuille de produits naturels, le « bouchon » se fait généralement lors de l'étape de séchage des produits extraits par solvant. Récemment, l'utilisation d'une nouvelle technologie a permis de faciliter et d'accélérer cette étape, éliminant ce « bouchon ».

Le National Center for Natural Product Research (NCNPR), une entité de recherche de l'École de Pharmacie de l'Université de Mississippi, a une longue tradition de découverte de nouveaux composés issus des produits naturels. Le NCNPR dispose d'une équipe dédiée de chercheurs, dont l'expertise est très diversifiée. Les équipes de botanistes, de biologistes et de chimistes ont développé des modèles pour identifier et isoler de nouveaux composés actifs des produits naturels. Le service de préparation des échantillons chez NCNPR est en charge de la production d'extraits de plantes destinés à ces efforts de recherche.

Le Processus d'obtention des échantillons pour les Produits Naturels

« Les équipes de botanistes qui récoltent les plantes et qui créent les bons taxonomiques pour notre collection croissante, récoltent des plantes ou des organismes marins. Ces échantillons sont lyophilisés, broyés et stockés dans notre banque. Chaque échantillon est pesé et extrait avec de l'éthanol en utilisant l'appareil Dionex ASE® 300 (Accelerated Solvent Extraction). L'appareil a été programmé pour répéter le processus d'extraction en s'assurant que le maximum de matière organique soit retiré. Le matériel extrait est séché et collecté dans des flacons de 250 ml. Le solvant est séché en utilisant différents types d'appareils jusqu'à ce que l'échantillon soit condensé, typiquement sous la forme d'une « pâte » brute foncée ».

Figure 1: Solvant Extrait du Dionex ASE®300 et Échantillons Finaux Extraits et Séchés

Ce processus est un art, plutôt qu'une science précise. « Le chimiste R&D qui conduit ce travail doit évaluer combien de matière est nécessaire pour générer suffisamment de pâte brute pour le travail de bioessais. Souvent, le même échantillon est à nouveau extrait ou un autre échantillon est extrait pour obtenir la quantité requise. Cette « pâte » est utilisée pour une première étape de bioessai. Les résultats de ces efforts décident quels produits naturels seront fractionnés pour la poursuite du travail. De nouveau, les fractions actives sont isolées pour identifier les composés purs pour la vérification d'activité, toujours au niveau des bioessais. Lorsqu'un nouveau composé est identifié, les chimistes travaillent à la synthèse à plus grande échelle pour la suite du travail. »

Le « bouchon »...

Le Dionex ASE® 300 produit 11 échantillons par cycle de production, ce qui génère ~150-200 mL d'extrait en solvant par échantillon. « La tâche la plus longue est de sécher le solvant pour produire la « pâte ». Par le passé, nous avons utilisé des méthodes combinant RotoVap®, SpeedVac® et GeneVac® HT-12 pour extraire le produit. Cette approche peut prendre de deux heures à plusieurs jours par échantillon pour un séchage complet. Divers échantillons naturels contiennent beaucoup d'huiles essentielles, qui nécessitent l'utilisation d'un dessiccateur voire même une lyophilisation pour transformer l'échantillon en « pâte ». Souvent, un seul échantillon devait être séché dans un SpeedVac® afin de réduire le volume total de ~200 mL à ~50 mL. La plupart du temps, quand le SpeedVac® était utilisé, le flacon contenant l'échantillon avait besoin d'être rincé pour retirer toute matière organique. Ce qui, évidemment, donne encore plus d'échantillon à sécher. C'était une étape nécessaire pour assurer que toute la matière puisse être transférée dans une fiole de 8 drachmes (14.216 g) avant l'étape finale de séchage. Ces fioles étaient utilisées comme conteneur de stockage pour nos « pâtes » ».



Figure 1 : Des flacons des échantillons du Dionex ASE®300 avec des extraits des Produits Naturels et des fioles de scintillation 20 mL avec des pâtes d'un extrait de Produits Naturels, séchées avec le SampleGenie™ et le Rocket™.

La solution : le Rocket™ et la SampleGenie™

Le NCNPR a découvert pour la première fois la technologie SampleGenie™ lors de l'exposition ALA (Association of Lab Automation) en 2008. « Lors de cette rencontre, les collaborateurs de Genevac® nous ont montré comment le SampleGenie™ pouvait prendre en charge un échantillon en vrac et le sécher dans un tout petit conteneur, là où l'on voulait garder l'échantillon ».

Figure 2: SampleGenie™ avec un Extrait d'un Produit Naturel

« Pour le NCNPR, l'avantage clé du SampleGenie™ était que l'on pouvait potentiellement éliminer l'étape de transfert. Début 2009, le commercial Genevac® m'a envoyé la documentation du Rocket™. Nous avons reçu un appareil d'essai à l'automne 2009 et nous l'avons utilisé pour la première fois pour sécher les extraits des produits naturels. L'appareil a réalisé en une seule journée le traitement d'un nombre d'échantillons équivalent à une semaine de travail. La conception unique et les paramètres opérationnels du Rocket™ nous ont permis de sécher les échantillons rapidement, dans des conditions de vide bas et de températures basses, sans porter atteinte à l'intégrité des échantillons. Le Rocket™ peut typiquement sécher six échantillons en 1 à 2 heures. Nous devons nous occuper du phénomène de « crashing » lorsque le Rocket™ est utilisé avec les produits naturels. (Le « Crashing » signifie qu'une partie de l'échantillon se colle à la paroi du SampleGenie pendant le processus de séchage). Le « crashing » exige un rinçage, mais ce n'est pas un problème puisque le Rocket sèche le solvant résiduel en moins d'une heure. L'échantillon final est séché dans des fioles de scintillation de 20 mL. C'est un autre avantage parce que nous pouvons maintenant stocker plus de nos échantillons dans notre congélateur à long terme. L'utilisation du Rocket™ et du SampleGenie™ nous permet d'éliminer le « bouchon » dans notre processus d'extraction des produits naturels. »



Figure 2 : Comparaison d'un Échantillon d'un Produit Naturel avant et après séchage utilisant le SampleGenie™ dans le Rocket™ de Genevac

fondamental d'extraction et de préparation du produit naturel peut demander beaucoup de temps. L'utilisation du Rocket™ et du SampleGenie™ a permis au NCNPR de gagner beaucoup de temps, avec l'élimination d'une étape de transfert, grâce à la technologie brevetée de séchage rapide de ces appareils.

L'Auteur

John Hester est Ingénieur Principal en R&D, Chargé du traitement des échantillons au Centre National pour la Recherche des Produits Naturels à l'Université de Mississippi qui se trouve à University, Mississippi, USA. (Téléphone: +1-662-915-3443, courriel: jphester@olemiss.edu).

Marques Déposées

- ▶ Dionex ASE®300 est une marque déposée de Dionex Inc., 3000 Lakeside Drive; Suite 116N; Bannockburn, IL; 60015 United States.
- ▶ Genevac® est une marque déposée et SampleGenie™ et Rocket™ sont des marques de Genevac Ltd, Ipswich, UK. – www.genevac.com

Figure 3 : Le Rocket™ en Opération

Conclusion

L'utilisation des produits naturels pour la recherche pharmaceutique présente un défi unique. Au-delà des problématiques chimiques d'isolation, le processus



Figure 3 : Le Rocket™ en Opération utilisé avec des Produits Naturels.