

I. Préparation des échantillons d'origine végétale dans le but d'extraire un principe actif

I.1. Définition du médicament

Un médicament est toute substance possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales.

I.2. Définition du principe actif

Un principe actif est toute substance biologique, minérale ou synthétique qui donne au médicament son **effet thérapeutique**.

I.3. Origine du principe actif

- Origine biologique : végétale (plantes), animale (exemple : Testicule de taureau pour l'insuffisance masculine, Foie pour traiter les anémies...) ou microbienne (exemple : levures, bactéries, virus,...)
- Origine minérale : exemple : Bicarbonate de sodium : correcteur de pH pour l'acidité gastrique, anti-inflammatoire dans le traitement de l'acné
- Origine synthétique : obtenu par simple réaction chimique et synthétiser au niveau de l'industrie pharmaceutique.

I.4. Démarches à suivre pour l'extraction d'un principe actif dans un échantillon d'origine végétale

1. **Récolte** : Elle s'effectue durant la période de floraison (développement des fleurs) et fructification (Formation ou production de fruits), car la plante est au maximum de maturation
2. **Séchage** : Après avoir bien lavée et nettoyée la plante, elle est séchée à l'étuve à une température adaptée à l'élément à analyser (généralement plus de 40°C) pendant une semaine ou à l'air libre, à l'abri de la lumière pendant des mois. La plante est ensuite broyée pour obtenir une poudre fine.
3. **Extraction** : C'est une opération qui consiste à séparer certains composés organiques de l'organisme végétal aux métabolites secondaires de plus grande importance, dont ils s'agissent des **principes actifs** (huiles essentielles, composés phénolique, saponines, alcaloïdes ...etc).

Remarque : Les plantes fournissant deux types de métabolites primaires en quantités élevées (sucres, lipides, protéines) et secondaires en faibles quantités mais de plus grande importance, il s'agit dans ce cas des **principes actifs** (huiles essentielles, composés phénolique, saponines, alcaloïdes ...etc).

- Les **polyphénols** sont obtenus par macération de la plante végétale, c'est-à-dire, on va laisser séjourner, à froid, la plante dans un solvant organique polaire (H₂O, méthanol, éthanol,...)

- Les alcaléoides sont obtenus par macération, en utilisant l'appareil de Soxhlet et dont le fonctionnement se base sur les propriétés physico-chimiques de la plante.
 - A pH acide, les alcaléoides sont sous forme de sel, ils sont récupérer dans les solvants polaires.
 - A pH basique, les alcaléoides sont sous forme de base, on les récupérer dans les solvants apolaire (chloroforme, dichlorométhane, hexane,...)
 - Les huiles essentielles sont obtenus par hydrodistillations, qui consiste à immerger directement la matière première végétale dans un bain d'eau qui est porté à ébullition généralement à pression atmosphérique.
4. **Dosage** : permet d'estimer la teneur en métabolites secondaires.
- Pour le dosage des polyphénols, on utilise un réactif spécifique qui est le Folin-liocalteu qui donne une couleur bleu, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à $\lambda=740$ nm.
 - Pour les alcaléoides et les huiles essentielles, on calcule le rendement selon la formule suivante : $Rd(\%) = P1/P2 \times 100$

Avec P2 : poids de la poudre végétale

P1 ; poids de l'extrait sec

5. **Caractérisation et identification** :

Les méthodes les plus utilisées dans la caractérisation et l'identification des principes actifs extrait des échantillons végétales sont :

- a. **Chromatographie sur couche mince (CCM)** : elle est utilisée pour déterminer le nombre de constituants d'un mélange
- b. **Chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou la Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS)** : ces méthodes permet la séparation et la caractérisation des composés volatiles comme les huiles essentielles.
- c. **Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)** : cette méthode permet la séparation et la caractérisation des composés fragiles et hydrosolubles (sensible à la chaleur).
- d. **Résonance magnétique nucléaire (RMN)** : elle est utilisée pour connaître la structure finale de la molécule.

I.5. Les étapes du développement d'un médicament

Le développement d'un médicament, de l'éprouvette à la pharmacie, nécessite en moyenne 10 à 15 ans. Cette période est généralement scindée en 4 étapes.

1. Etape de recherche (criblage ou screening) : Cette phase de recherche a pour objectif principale de découvrir les molécules d'intérêt thérapeutique, à savoir les principes actifs qui vont agir le plus efficacement sur une pathologie définie.

Dans cette étape, les chercheurs ont pour mission :

- définir la pathologie à traiter ;
- d'explorer de nouvelles cibles et synthétiser ainsi de nouvelles molécules en utilisant le criblage ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination) ;
- extraction des principes actifs à partir d'échantillons naturels ;
- établir une comparaison avec le traitement existant sur le marché.

2. Etape de développement : Elle regroupe deux phases.

a. Phase pré-clinique : Le principe actif ainsi obtenu est testé sur des animaux (test in vivo), exemple : souris, rat, singe, lapins, ... ou sur un modèle de cellule (test in vitro). Dans le but de déterminer :

- Les effets pharmacologiques du principe actif, c.-à-d., étudier le mécanisme d'action et mesurer l'efficacité du candidat médicament ;
- Les effets secondaires, c.-à-d., étudier le comportement et le devenir du composé dans un organisme vivant.
- La toxicité du candidat médicament.

Remarque :

L'évaluation de la toxicité permet de déterminer :

- DSO ou DSEO : La dose sans effet observée, c'est la dose maximale du médicament qui n'induit aucun effet toxique sur l'animal étudié.
- D.J.A : Dose journalière maximale admissible, c'est la dose qu'on peut administrer chaque jour à long terme, sans aucun effet sur l'espèce la plus sensible, l'être humain.

$$D.J.A = DSEO / 100$$

100, est un facteur suggéré par l'OMS.

b. Phase clinique : Les essais cliniques sont les essais du médicament chez l'homme afin d'en vérifier les effets et/ou d'identifier tout effet indésirable et/ou d'en étudier l'efficacité et la sécurité d'emploi.

Cette phase de développement correspond à 4 types d'études conduites sur l'homme :

- **Les études cliniques de phase 1 :** elles sont réalisées sur des petits effectifs de volontaires non malades (20 à 80 participants) et ont pour but d'étudier la tolérance (capacité de l'organisme à supporter, sans effets gênants, l'administration du médicament) et ces effets secondaires.

- **Les études cliniques de phase 2** : elles sont réalisées sur un petit nombre de personnes malades (100 à 300 malades) et ont pour objectif de déterminer la dose optimale en termes d'efficacité et de tolérance du médicament ainsi que ces effets secondaires.
- **Les études cliniques de phase 3** : elles sont réalisées sur un grand nombre de volontaires malades et visent à répondre à évaluer le rapport bénéfice/risque sur le patient. Et, s'il existe déjà un traitement de référence, des études comparatives sont menées entre le candidat médicament et le traitement de référence.
- **Les essais cliniques de phase 4** : ils s'agissent de suivi à long terme du médicament après sa mise sur le marché pour pouvoir dépister les effets secondaires et les complications tardives.

3. Etape d'autorisation de la mise sur le marché (EMM) : c'est l'étape administrative de la fabrication d'un médicament, elle consiste à déposer une demande d'autorisation de mise sur le marché auprès d'une agence du médicament, accompagné de tous les démarches réalisées par le fabricant dans le but de faire agréer son médicament par les organismes de sécurité sociale et des collectives.

Il faut compter minimum un an entre le dépôt du dossier d'enregistrement et l'obtention de l'AMM.

- Cette autorisation est délivrée pour une période de 5 ans renouvelable, sans limitation de la durée, mais qui peut être suspendu ou modifié à tous moment.
- Cette autorisation peut être refusé lorsqu'il apparait que le médicament est nocif ou qu'il n'a pas la composition qualitative ou quantitative déclarée.

4. Etape de commercialisation : il s'agit de lancer le produit avec une campagne publicitaire et une grande information auprès des médecins, pharmaciens et autre membres de la profession.

