

Intérêt de la chromatographie liquide d'interactions hydrophiles pour l'analyse de composés polaires dans des matrices complexes

F. Lecomte¹, S. Demarche¹, S. Evrard¹, S. Delaunay¹, C. Hubert¹, E. Rozet¹, Ph. Hubert¹

¹ *Laboratoire de Chimie Analytique, CIRM, Institut de Pharmacie, Université de Liège, Belgique*

Connue depuis plus de 25 ans [1], la chromatographie liquide d'interactions hydrophiles (HILIC) a pris de plus en plus d'importance au cours de ces dernières années pour l'analyse de composés polaires. Le mode HILIC s'avère être une alternative très intéressante aux modes normale et inverse. En effet, la nature des phases mobiles utilisées s'accorde bien avec la préparation des échantillons biologiques (plasma, urine, aliments, etc.) et permet un couplage aisé avec des détecteurs nécessitant une désolvation tels les spectromètres de masse (SM) et les détecteurs évaporatifs à diffusion de lumière (DEDL). De plus, il existe sur le marché une grande variété de phases stationnaires permettant la séparation et le dosage de molécules polaires très diverses [2,3]. L'acétonitrile est le solvant de choix pour la chromatographie en mode HILIC et ce, malgré son coût et sa disponibilité qui a connu récemment des aléas. Dans ce contexte, le méthanol peut aussi être utilisé en mode HILIC. Il constitue non seulement une alternative économique intéressante mais offre de plus une sélectivité différente permettant de mener à bien certaines séparations [4].

Au cours de ce travail, les potentialités de ces solvants ont été étudiées pour l'analyse de deux molécules polaires, le cidofovir et la glucosamine, dans des matrices complexes à savoir le plasma et l'urine pour le premier composé et des compléments alimentaires pour le second. Trois colonnes différentes (ZIC[®]-HILIC, amino et silice vierge) ont été testées afin d'étudier les interactions entre les analytes et ces phases stationnaires. L'impact du pH et de la température sur la rétention et la symétrie des pics a également été investigué au moyen de plans d'expériences de manière à couvrir l'ensemble du domaine expérimental.

Dans le cadre des matrices complexes étudiées, certains échantillons ont fait l'objet d'une préparation plus élaborée qu'une simple mise en solution suivie d'une filtration. C'est ainsi que les fluides biologiques ont subi préalablement à leur analyse chromatographique une extraction sur phase solide échangeuse d'ions, étape indispensable à l'amélioration de la sélectivité mais aussi à la pérennité du système chromatographique. Les résultats obtenus lors de l'optimisation de ces différentes étapes seront présentés.

Enfin, une méthode pour le dosage du cidofovir dans le plasma humain a été validée selon l'approche du profil d'exactitude afin de démontrer la fiabilité du mode HILIC en bioanalyse.

[1]. A. J. Alpert, *J. Chromatogr. A* 499 (1990) 177-196.

[2]. P. Hemström, K. Igrum, *J. Sep. Sci.* 29 (2006) 1784-1821.

[3]. S.D. Brown, C.A. White, M.G. Bartlett, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 16 (2002) 1871-1876.

[4]. M. Liu, J. Ostovic, E.X. Chen, N. Cauchon, *J. Chromatogr. A* 1216 (2009) 2362-2370.