

Intérêt de la chromatographie en mode HILIC pour le dosage du cidofovir dans des fluides biologiques

F. Lecomte, C. Hubert, E. Rozet, Ph. Hubert

Laboratoire de Chimie Analytique, CIRM, Institut de Pharmacie, Université de Liège

Connue depuis des décennies [1,2], 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 et permet un couplage aisé avec des détecteurs nécessitant une désolvation tels les spectromètres de masse (MS) et les détecteurs évaporatifs à diffusion de lumière (ELSD). De plus, il existe sur le marché une grande variété de phases stationnaires permettant la séparation et le dosage de molécules polaires très diverses [3,4]. 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 quelques aléas. Dans ce contexte, le méthanol peut aussi être utilisé. Il constitue non seulement une alternative économique intéressante mais offre de plus une sélectivité différente permettant de mener à bien certaines séparations [5].

Au cours de ce travail, les potentialités de ces solvants ont été étudiées pour l'analyse du cidofovir, une molécule polaire, dans le plasma et l'urine. Trois colonnes différentes (ZIC[®]-HILIC, amino et silice vierge) ont été testées et les interactions entre l'analyte et ces phases stationnaires ont été étudiées. L'impact du pH et de la température sur la rétention et la symétrie des pics a également été investigué au moyen de la planification expérimentale.

Préalablement à l'analyse chromatographique, les échantillons biologiques ont subi 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 de 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.P. Martin, R.L.M. Synge, *Biochem. J.* 35 (1941) 1358-1368.

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

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

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

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