

Phase HPLC **biphényle**

une solution alternative ou complémentaire aux colonnes C18

La plupart des analyses HPLC en phase inverse sont réalisées avec des phases à chaînes alkyle linéaires comme celles des colonnes C8 ou C18. Si elles s'avèrent bien adaptées à l'analyse des composés apolaires, il est fréquent que ces phases ne présentent pas la sélectivité nécessaire pour d'autres composés. Dans de tels cas, **les colonnes de type biphényle sont l'alternative idéale pour les analyses en phase inverse**. Les phases biphényle mettent en oeuvre des interactions π - π et offrent donc une sélectivité différente de celle des phases de type alkyle. Comparativement aux phases phényle conventionnelles, les phases biphényle garantissent une plus forte rétention hydrophobe. La phase biphényle Restek composée de deux groupements phényle mis bout à bout, se différencie des phases phényle de par sa structure et ses caractéristiques (Figure 1) qui lui confèrent, outre une rétention hydrophobe élevée, une grande sélectivité vis-à-vis des composés aromatiques (Figure 2).

Pour maîtriser totalement la qualité et la reproductibilité de ses colonnes, Restek prépare ses remplissages avec sa propre silice.

Figure 1 Structure et caractéristiques de la phase biphényle.



BIPHENYLE

- Deux groupements phényle mis bout à bout
- La plus forte rétention hydrophobe de toutes les phases phényle
- La plus grande sélectivité vis-à-vis des composés aromatiques



PHENYLE HEXYLE

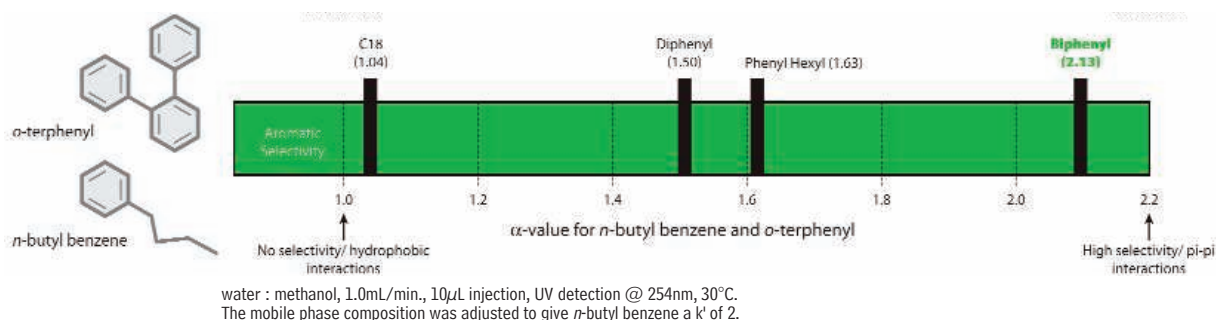
- Simple groupe phényle
- Bonne rétention hydrophobe
- Bonne rétention aromatique



ODS (OCTADECYLSILANE) OU C18

- La plus courante des phases pour HPLC en phase inverse
- Forte rétention hydrophobe
- Pas de sélectivité vis-à-vis des composés aromatiques

Figure 2 La phase biphényle offre une sélectivité inégalée vis-à-vis des composés aromatiques.



La phase biphényle est idéale pour le développement de méthodes d'analyse en phase inverse car elle associe une forte rétention hydrophobe comparable à celle d'une phase C18, à une sélectivité supérieure vis-à-vis des composés aromatiques. L'ajustement possible et facile de ces deux mécanismes de séparation bien distincts, fait des colonnes biphényle une solution de choix pour le développement de méthodes.

Les avantages de la phase biphényle :

- Meilleure sélectivité vis-à-vis des principes actifs pharmaceutiques.
- Plus grande rétention des composés pharmaceutiques.
- Sélectivité ajustable pour un contrôle facile des mécanismes de séparations hydrophobe et aromatique.
- Grande polyvalence : Un large choix de silices et de configurations.

Meilleure sélectivité vis-à-vis des principes actifs pharmaceutiques

Le principal avantage des colonnes de type phényle est leur capacité à séparer des composés en mettant en œuvre des interactions π - π , phénomène autrement désigné comme sélectivité vis-à-vis des composés aromatiques. Ces colonnes sont souvent utilisées dans le but d'obtenir une sélectivité différente de celle des colonnes C18. Elles constituent aussi un bon moyen de séparer les principes actifs et leurs impuretés qui comprennent fréquemment des noyaux aromatiques et qui diffèrent souvent de par leur niveau d'insaturation. La configuration unique des groupes phényle de la phase biphenyle Restek, augmente à la fois la rétention hydrophobe et les possibilités d'interactions π - π offrant ainsi la sélectivité vis-à-vis des composés aromatiques la plus élevée (Figures 3 et 4).

Figure 3 La phase biphenyle est plus sélective qu'une colonne conventionnelle C18 vis-à-vis des **tétracyclines**.

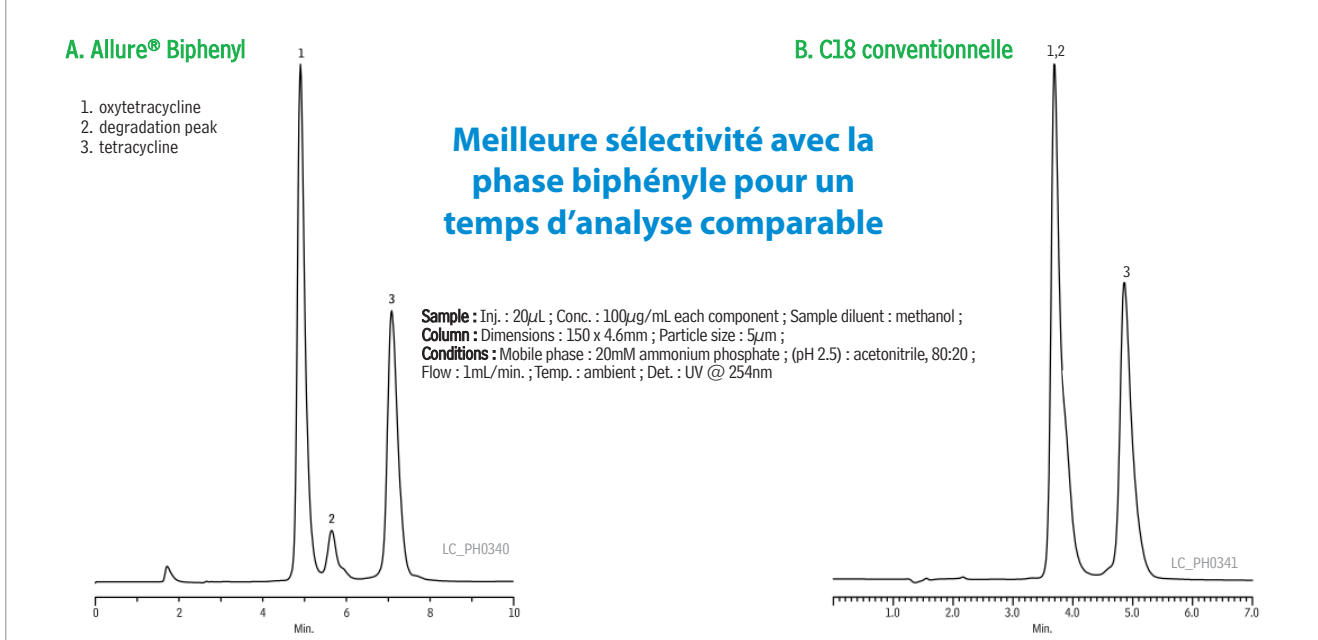
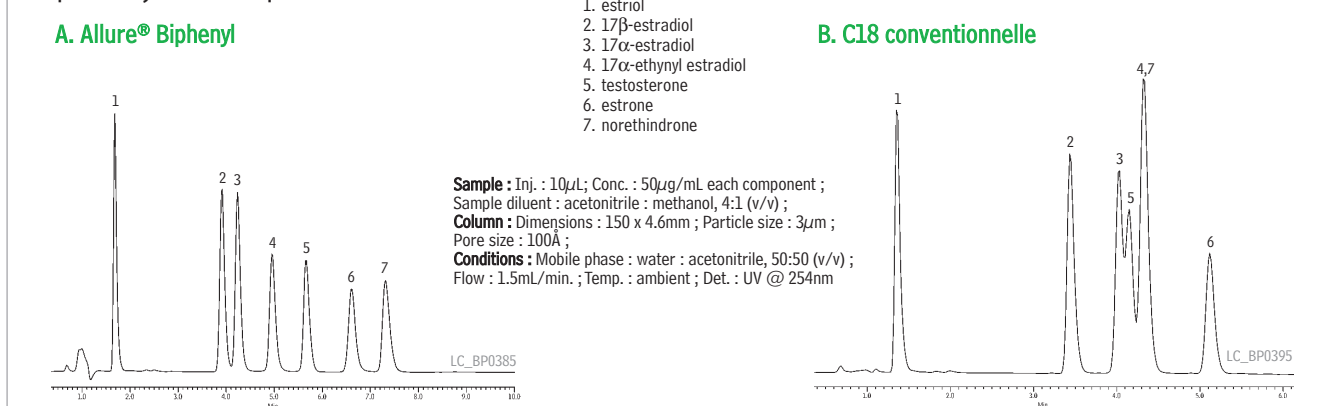


Figure 4 Contrairement à une colonne C18 conventionnelle, une colonne biphenyle sépare des **stéroïdes** en une simple analyse isocratique.



Plus grande rétention des composés pharmaceutiques

Il n'est pas toujours facile d'obtenir la rétention nécessaire à la séparation de certains composés pharmaceutiques et de leurs métabolites. Les phases phényle ne permettent qu'une rétention hydrophobe modérée et plus faible que celle des colonnes C18, limitant ainsi leur champ d'application. La phase biphenyle garantit une meilleure rétention comme le montre la Figure 5.

La Figure 6 présente une comparaison de la capacité de rétention, pour des anti-inflammatoires non-stéroïdiens, des phases C18, phényle conventionnelle et biphenyle. Dans tous les cas, comme cela se vérifie dans la pratique, la phase phényle conventionnelle offre une rétention plus faible que la colonne C18. En revanche, la phase biphenyle garantit une rétention comparable à celle d'une C18 avec une phase mobile composée d'acetonitrile et nettement plus grande en présence de méthanol. Cette rétention accrue avec la colonne biphenyle autorise l'ajustement de la sélectivité en jouant sur la composition de la phase mobile pour contrôler le mécanisme de séparation.

Les colonnes biphenyle sont plus rétives pour les composés pharmaceutiques que les colonnes phényle et C18 conventionnelles. Elles constituent donc une solution de choix pour les analyses par LC/MS et pour l'analyse des matrices biologiques complexes.

Figure 5 Seule la phase biphenyle permet d'obtenir un facteur de rétention K' supérieur à 2.

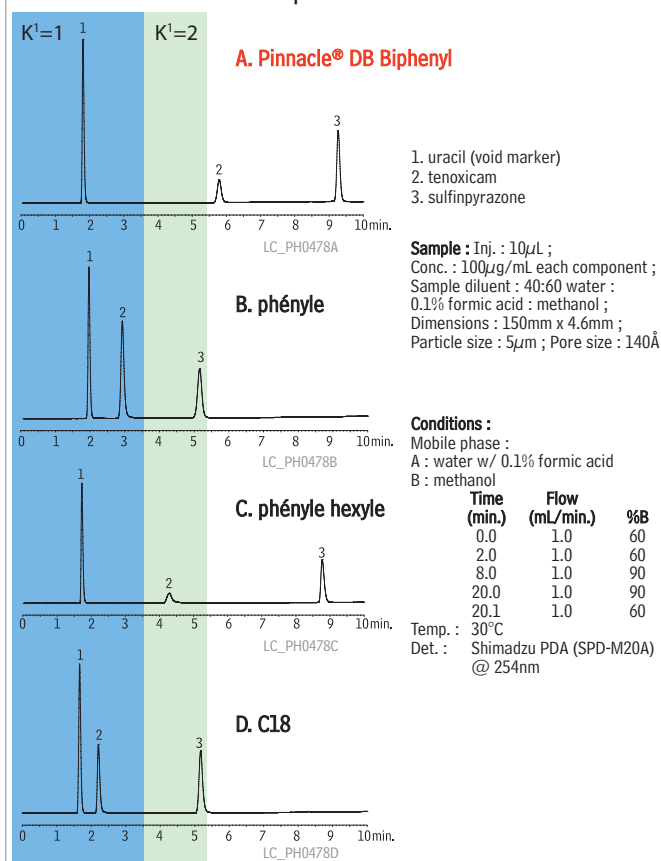
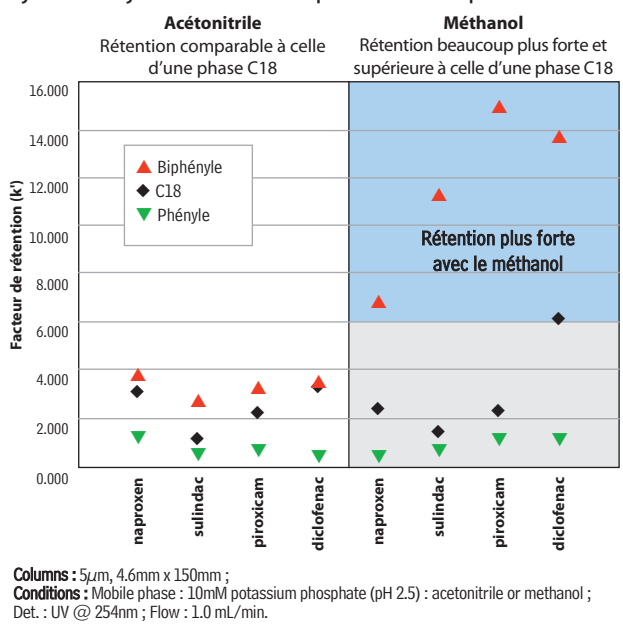


Figure 6 La phase biphenyle offre une rétention égale ou supérieure à celle d'une phase C18 et qui peut être ajustée en jouant sur la composition de la phase mobile.



La polyvalence d'une colonne biphenyle en fait un outil précieux pour le développement de méthodes mais également complémentaire des colonnes habituellement utilisées lors d'analyses de « screening ».

Sélectivité ajustable pour un contrôle facile des mécanismes de séparation hydrophobe et aromatique.

Comme souvent en HPLC, il est possible de modifier la phase mobile pour améliorer une séparation ou obtenir le niveau de résolution souhaité. Avec la phase biphenyle, ceci peut être réalisé plus facilement grâce à l'ajustabilité de sa sélectivité. Le choix du solvant organique de la phase mobile peut significativement modifier la sélectivité en passant de l'un à l'autre des mécanismes de séparation suivants : interactions hydrophobes ou interactions π - π . Comme le montre la Figure 6, l'utilisation de l'acétonitrile confère à la phase biphenyle une rétention et une sélectivité proches de celles d'une phase C18 alors que le méthanol crée une sélectivité aromatique. Il est aussi possible, en ajustant le niveau voulu d'interactions hydrophobes et π - π ou en mélangeant le méthanol et l'acétonitrile jusqu'à un certain rapport, d'obtenir une meilleure sélectivité pour séparer des molécules qui ne diffèrent que par leur degré d'insaturation, la position des doubles liaisons ou possédant des groupements donneurs d'électrons.

La Figure 7 montrant l'analyse d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens, illustre bien les avantages d'une rétention plus forte et d'une sélectivité ajustable. Une simple modification de la phase mobile permet une parfaite séparation avec un ordre d'élution différent, ce qui est fort apprécié lors de développements de méthodes. Une phase mobile plus riche en phase organique ou composée d'un mélange de phases organiques, peut également améliorer la sensibilité en LC/MS en favorisant une meilleure désolvatation. La possibilité d'ajuster la sélectivité des phases biphenyle est un outil précieux pour le développement de méthodes.

Figure 7 Avec la phase biphenyle, une simple modification de la phase mobile modifie l'ordre d'élution en conservant une parfaite séparation. Idéal pour le développement de méthodes.

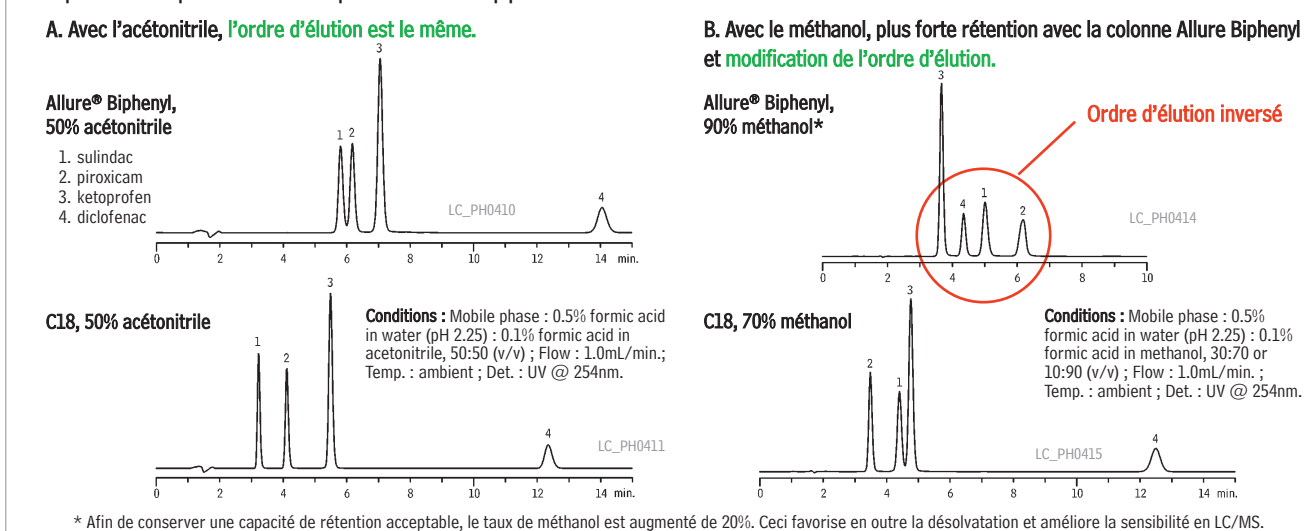
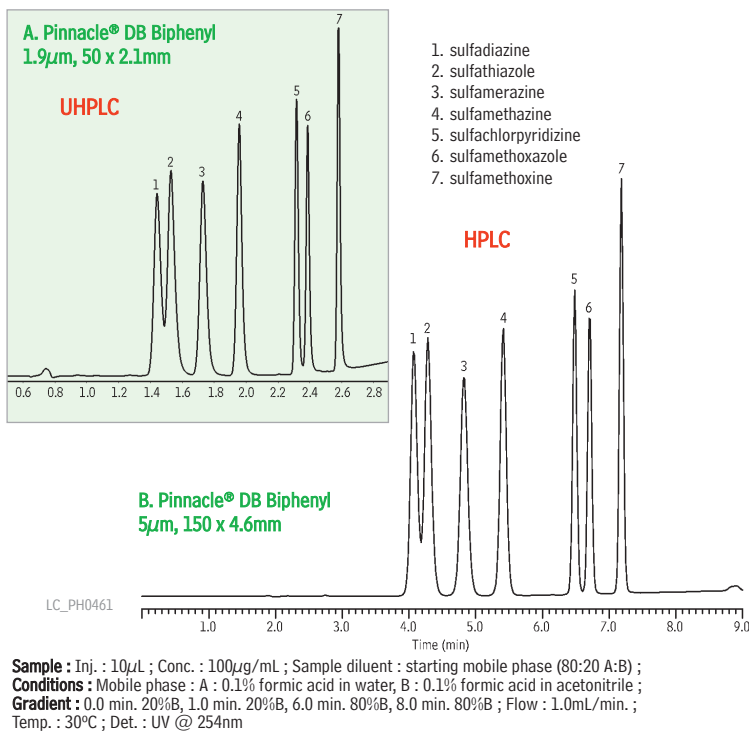


Figure 8 Les colonnes biphenyle Restek sont proposées dans de nombreuses configurations pour répondre aux applications les plus variées, UHPLC et HPLC notamment.



Grande polyvalence : Un large choix de silices et de configurations

La phase biphenyle Restek est disponible avec différentes silices, notamment Allure et Pinnacle DB et dans une large gamme de configurations pour répondre à toutes les applications (voir caractéristiques des colonnes ci-dessous). Ainsi la granulométrie des silices varie de 1.9 à 5µm et le diamètre interne des colonnes de 1 à 10mm (Figure 8).

Références

1. M. R. Euerby, P. Petersson, W. Campbell, W. Roe, J. Chromatogr. A 1154 (2007) 138.
2. M. Yang, S. Fazio, D. Munch, P. Drumm, J. Chromatogr. A 1097 (2005) 124.

La phase biphenyle est également proposée avec les silices Pinnacle II, Ultra et Viva. Nous consulter.

Les colonnes Restek Allure et Pinnacle DB Biphenyl

Colonnes Pinnacle® DB Biphenyl

- Silice désactivée vis-à-vis des composés basiques fabriquée par Restek.
- Granulométrie de 1.9 à 5µm.
- Optimisées pour l'UHPLC.

Caractéristiques physiques :

Taille des particules : 1.9 µm, 3 µm ou 5 µm, sphériques
Taille des pores : 140Å
Taux de carbone : 8%

« Endcapée »
Gamme de pH : 2.5 à 7.5
Température limite : 80°C

Colonnes Allure® Biphenyl

- Silice de grande pureté. Surface spécifique élevée.
- Forte rétention. Idéales pour la LCMS.

Caractéristiques physiques :

Taille des particules : 5µm, sphérique « Endcapée »
Taille des pores : 60Å
Taux de carbone : 23%

Gamme de pH : 2.5 à 7.5
Température limite : 80°C

Silice de 1.9µm, DI 2.1mm Réf.

30mm	9409232
50mm	9409252
100mm	9409212

Silice de 3µm, DI 2.1mm Réf.

30mm	9409332
50mm	9409352
100mm	9409312
150mm	9409362

Silice de 3µm, DI 3.2mm Réf.

30mm	9409333
50mm	9409353
100mm	9409313
150mm	9409363

Silice de 3µm, DI 4.6mm Réf.

30mm	9409335
50mm	9409355
100mm	9409315
150mm	9409365

Silice de 5µm, DI 2.1mm Réf.

30mm	9409532
50mm	9409552
100mm	9409512
150mm	9409562
200mm	9409522
250mm	9409572

Silice de 5µm, DI 3.2mm Réf.

30mm	9409533
50mm	9409553
100mm	9409513
150mm	9409563
200mm	9409523
250mm	9409573

Silice de 5µm, DI 4.6mm Réf.

30mm	9409535
50mm	9409555
100mm	9409515
150mm	9409565
200mm	9409525
250mm	9409575

Silice de 5µm, DI 2.1mm Réf.

30mm	9166532
50mm	9166552
100mm	9166512
150mm	9166562
200mm	9166522
250mm	9166572

Silice de 5µm, DI 3.2mm Réf.

30mm	9166533
50mm	9166553
100mm	9166513
150mm	9166563
200mm	9166523
250mm	9166573

Silice de 5µm, DI 4.6mm Réf.

30mm	9166535
50mm	9166555
100mm	9166515
150mm	9166565
200mm	9166525
250mm	9166575

RESTEK

Restek France

7, avenue du Général de Gaulle - 91090 Lisses

tél. 01 60 78 32 10

fax 01 60 78 70 90

e-mail : restek@restekfrance.fr

réf. GNFL1096B-FRX

© 2011 Restek Corporation.

ISO 9001:2008
cert. # FM80397