



Section 1
Propriétés physico-chimiques

Essai n° 117:
Coefficient de partage (n-octanol/eau),
méthode HPLC

30 juin 2022

Lignes directrices de l'OCDE pour
les essais de produits chimiques



Adoptée :
13 avril 2014

Corrigée :
30 juin 2022
(retrait d'une référence)

LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

Coefficient de partage (n-octanol/eau), méthode HPLC (Chromatographie en phase liquide à haute performance)

1. INTRODUCTION

1. Le coefficient de partage (P) est le rapport des concentrations d'équilibre d'une substance dissoute dans un système à deux phases composé de deux solvants largement non miscibles. Dans le cas du n-octanol et de l'eau :

$$P_{oe} = \frac{C_{n - octanol}}{C_{eau}}$$

Étant le quotient de deux concentrations, le coefficient de partage est sans dimension et il est généralement donné sous la forme de son logarithme en base dix.

2. P_{oe} est un paramètre clé des études du devenir des substances chimiques dans l'environnement. On a mis en évidence l'existence d'une relation hautement significative entre le P_{oe} de substances sous forme non ionisées et leur bio-accumulation dans les poissons. De même, il a été démontré que le P_{oe} était un paramètre utile pour prédire l'adsorption sur les sols et sédiments, mais aussi pour établir une relation structure-activité quantitative pour un large éventail d'effets biologiques.

3. La proposition originale de cette Ligne directrice est basée sur un article de C.V. Eadsforth et P. Moser (1). L'élaboration de la Ligne directrice et la conduite d'un essai comparatif inter-laboratoires à l'échelle de l'OCDE ont été coordonnées par le Umweltbundesamt de la République fédérale d'Allemagne au cours de l'année 1986 (2).

2. CONSIDÉRATIONS INITIALES

4. La méthode Shake-Flask permet de déterminer de manière expérimentale les valeurs $\log P_{oe}$ dans la plage -2 à 4 (et à l'occasion jusqu'à 5 et plus)¹ (Ligne directrice de l'OCDE 107). La méthode HPLC couvre le $\log P_{oe}$ dans la plage de 0 à 6 (1)(2)(3)(4)(5). Le cas échéant, cette méthode peut nécessiter une estimation de P_{oe} de façon à attribuer des substances de référence appropriées, mais aussi appuyer les conclusions éventuellement tirées des résultats de cet essai. Les méthodes de calcul sont succinctement abordées dans l'Annexe de cette Ligne directrice. Le mode opératoire HPLC est isocratique.

5. Les valeurs de P_{oe} dépendant des conditions environnementales (température, pH, force ionique, etc.), il convient de définir ces dernières dans l'expérience pour que les résultats P_{oe} soient ensuite correctement interprétés.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

6. La HPLC phase inverse est effectuée sur des colonnes analytiques remplies de phase silice (achetée dans le commerce) greffée avec de longues chaînes hydrocarbonées (C8 ou C18, par exemple).

7. Une substance chimique injectée sur une telle colonne se partage entre la phase mobile du solvant et la phase stationnaire hydrocarbonée, et elle est transportée le long de la colonne par la phase mobile. Les substances chimiques sont retenues en proportion de leur coefficient de partage hydrocarbone-eau, les substances hydrophiles étant éluées les premières et les substances lipophiles les dernières. Le temps de rétention est décrit par le facteur de capacité k , donné par l'expression suivante :

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

où t_R est le temps de rétention de la substance d'essai, et t_0 le temps mort, c'est-à-dire le temps moyen nécessaire à une molécule du solvant pour passer la colonne. Aucune méthode analytique quantitative n'est requise et seule la détermination des temps de rétention est nécessaire.

8. Le coefficient de partage octanol/eau d'une substance d'essai peut être calculé de manière expérimentale, en déterminant tout d'abord son facteur de capacité k que l'on intègre ensuite dans l'équation suivante :

$$\log P_{oe} = a + b \times \log k$$

où

a, b = coefficients de régression linéaire.

¹ L'application d'une limite supérieure est imposée par la nécessité de réaliser une phase de séparation complète après ajustements de l'équilibre de partition et avant prélèvement des échantillons pour détermination analytique. En apportant un soin particulier à l'opération, on peut porter la limite supérieure à des valeurs supérieures de P_{oe} .

L'équation ci-avant peut être obtenue par régression linéaire logarithmique des coefficients de partage octanol/eau des substances de référence par rapport au logarithme des facteurs de capacité de ces mêmes substances.

9. La méthode de la HPLC phase inverse permet d'estimer les coefficients de partage dans une plage de $\log P_{oe}$ allant de 0 à 6, mais cette plage peut être étendue (de 6 à 10) dans certains cas exceptionnels. Dans ces derniers cas, la phase mobile est modifiée (3). Cette méthode n'est pas applicable aux bases et acides forts, aux complexes métalliques, aux substances réagissant avec l'éluant, ou aux agents tensio-actifs. Des mesures peuvent être effectuées sur des substances ionisables sous leur forme non ionisée (acide ou base libre), mais uniquement en utilisant un tampon avec un pH inférieur au pKa pour un acide libre, ou supérieur au pKa pour une base libre. Si la valeur $\log P_{oe}$ est déterminée en vue d'une classification des dangers environnementaux ou d'une évaluation des risques pour l'environnement, l'essai doit être conduit dans la plage de pH pertinente pour l'environnement naturel, c'est-à-dire pour des pH de 5 à 9.

10. Dans certains cas, des impuretés peuvent compliquer l'interprétation des résultats, du fait des incertitudes dans l'affectation des pics. Pour les mélanges dont le résultat comporte une bande non résolue, les limites supérieure et inférieure de $\log P_{oe}$, ainsi que le pourcentage de surface de chaque pic de $\log P_{oe}$ doivent être indiqués. Pour les mélanges constitués d'un groupe d'homologues, la moyenne pondérée $\log P_{oe}$ doit également être précisée (6), et calculée sur la base des valeurs P_{oe} individuelles et des pourcentages de surface correspondante (7). Tous les pics contribuant à une surface de 5 pour cent ou plus de la surface totale de tous les pics doivent être prise en compte dans le calcul (8) :

$$\text{moyenne pondérée } \log P_{oe} = \frac{\sum_i (\log P_{oei}) (\text{surface } \%_i)}{\text{surface totale des pics } \%} = \frac{\sum_i (\log P_{oei}) (\text{surface } \%_i)}{\sum_i \text{surface } \%_i}$$

La moyenne pondérée $\log P_{oe}$ est valide uniquement pour les substances ou les mélanges (« tall-oils » par exemple) composés d'homologues (série d'alkanes par exemple). Des mesures et résultats probants peuvent être obtenus avec les mélanges, à condition que le détecteur analytique utilisé ait la même sensibilité envers toutes les substances du mélange, et qu'il puisse être résolu de la manière adéquate.

4. INFORMATIONS SUR LA SUBSTANCE D'ESSAI

11. La constante de dissociation, la formule structurale et la solubilité dans la phase mobile doivent être connues avant toute utilisation de la méthode. Par ailleurs, des informations sur l'hydrolyse seraient utiles.

5. CRITÈRES DE QUALITÉ

12. Pour accroître la confiance dans la mesure, des déterminations dupliquées doivent être effectuées.

- Répétabilité : La valeur de $\log P_{oe}$ dérivée de mesures répétées effectuées dans des conditions identiques, et en utilisant le même ensemble de substances de référence, doit être identiques à $\pm 0,1$ unités logarithmiques près.
- Reproductibilité : Si les mesures sont répétées avec un autre ensemble de substances de référence, les résultats peuvent être différents. Généralement, le

coefficient de corrélation R pour la relation entre $\log k$ et $\log P_{oe}$ pour un ensemble de substances d'essai est d'environ 0,9, ce qui correspond à des coefficients de partage octanol/eau de $\log P_{oe}$ identiques à + 0,5 unités logarithmiques près.

13. L'essai comparatif inter-laboratoires a montré que, avec la méthode HPLC, les valeurs $\log P_{oe}$ peuvent être obtenues à $\pm 0,5$ unités des valeurs de Shake-Flask (2). La littérature propose d'autres comparaisons (4)(5)(9)(10)(11). Ce sont les graphiques de corrélation basés sur des substances de référence structurellement proches qui produisent les résultats les plus précis (12).

6. SUBSTANCES DE RÉFÉRENCE

14. Pour corréler le facteur de capacité mesuré k d'une substance avec son P_{oe} , il convient d'établir un graphique d'étalonnage utilisant au moins 6 points (voir le paragraphe 24). Il appartient à l'utilisateur de choisir les substances de référence appropriées. Normalement, celles-ci doivent avoir des valeurs $\log P_{oe}$ qui englobent le $\log P_{oe}$ de la substance d'essai. Autrement dit, au moins une substance de référence doit avoir un P_{oe} supérieur à celui de la substance d'essai, et une autre un P_{oe} inférieur à celui de la substance d'essai. L'extrapolation ne doit être utilisée que dans des cas exceptionnels. Il est préférable que ces substances de référence soit structurellement proches de la substance d'essai. Les valeurs $\log P_{oe}$ des substances de référence utilisées pour l'étalonnage doivent être basées sur des données expérimentales fiables. Toutefois, pour les substances avec un $\log P_{oe}$ élevé (normalement supérieur à 4), des valeurs calculées peuvent être utilisées, sauf s'il existe des données expérimentales disponibles fiables. Si des valeurs extrapolées sont utilisées, une valeur limite doit être précisée.

15. Des listes de valeurs $\log P_{oe}$ pour de nombreux groupes de substances chimiques sont disponibles (13)(14). Si aucune donnée n'est disponible sur les coefficients de partage de substances structurellement proches, un étalonnage plus général, établi avec d'autres substances de référence, peut être utilisé. Le Tableau 1 présente les substances de référence recommandées, avec leurs valeurs de P_{oe} . Pour les substances ionisables, les valeurs données s'appliquent à leur forme non ionisée. La plausibilité et la qualité de ces valeurs ont été contrôlées au cours de l'essai comparatif inter-laboratoires.

Tableau 1. Substances de référence recommandées

	Numéro CAS	Substances de référence	$\log P_{oe}$	pKa
1	78-93-3	(Méthyl éthyl cétone)	0,3	
2	1122-54-9	4-Acétylpyridine	0,5	
3	62-53-3	Aniline	0,9	
4	103-84-4	Acétanilide	1,0	
5	100-51-6	Alcool benzylique	1,1	
6	150-76-5	Éther monométhyle d'hydroquinone	1,3	pKa = 10,26
7	122-59-8	Acide phénoxyacétique	1,4	pKa = 3,12
8	108-95-2	Phénol	1,5	pKa = 9,92
9	51-28-5	Dinitro-2,4 phénol	1,5	pKa = 3,96
10	100-47-0	Benzonitrile	1,6	
11	140-29-4	Phényl acétonitrile	1,6	
12	589-18-4	Alcool méthyl-4 benzylique	1,6	
13	98-86-2	Acétophène	1,7	
14	88-75-5	Nitro-2 phénol	1,8	pKa = 7,17
15	121-92-6	Acide 3-nitrobenzoïque	1,8	pKa = 3,47

16	106-47-8	Chloro-4 aniline	1,8	pKa = 4,15
17	98-95-3	Nitrobenzène	1,9	
18	104-54-1	Alcool cinnamique	1,9	
19	65-85-0	Acide benzoïque	1,9	pKa = 4,19
20	106-44-5	Crésol (para-)	1,9	pKa = 10,17
21	140-10-3	Acide cinnamique (trans-)	2,1	pKa = 3,89 (cis) 4,44 (trans)
22	100-66-3	Anisole	2,1	
23	93-58-3	Benzoate de méthyl	2,1	
24	71-43-2	Benzène	2,1	
25	99-04-7	Acide toluïque (meta-)	2,4	pKa = 4,27
26	106-48-9	Chlorophénol (para-)	2,4	pKa = 9,1
27	79-01-6	Trichloroéthylène	2,4	
28	1912-24-9	Atrazine	2,6	
29	93-89-0	Benzoate d'éthyle	2,6	
30	1194-65-6	2,6-Dichlorobenzonitrile	2,6	
31	535-80-8	Acide chloro-3 benzoïque	2,7	Pka = 3,82
32	108-88-3	Toluène	2,7	
33	90-15-3	Naphthol-1	2,7	Pka = 9,34
34	608-27-5	2,3-Dichloroaniline	2,8	
35	108-90-7	Chlorobenzène	2,8	
36	1746-13-0	Phénoxyate d'allyle	2,9	
37	108-86-1	Bromobenzène	3,0	
38	100-41-4	Éthylbenzène	3,2	
39	119-61-9	Benzophénone	3,2	
40	92-69-3	4-Phénylphénol	3,2	Pka = 9,54
41	89-83-8	Thymol	3,3	
42	106-46-7	Dichloro-1,4 benzène	3,4	
43	122-39-4	Diphénylamine	3,4	Pka = 0,79
44	91-20-3	Naphthalène	3,6	
45	93-99-2	Phényl benzoate	3,6	
46	98-82-8	Cumène	3,7	
47	88-06-2	Trichloro-2,4,6 phénol	3,7	pKa = 6
48	92-52-4	Biphényle	4,0	
49	120-51-4	Benzoate de benzyle	4,0	
50	88-85-7	Dinosèbe	4,1	
51	120-82-1	Trichloro-1,2,4 benzène	4,2	
52	143-07-7	Acide dodécanoïque	4,2	pKa = 5,3
53	101-84-8	Éther diphenylique	4,2	
54	85-01-8	Phénanthrène	4,5	
55	104-51-8	Butylbenzène normal	4,6	
56	103-29-7	Dibenzyl	4,8	
57	3558-69-8	2,6-Diphenylpyridine	4,9	
58	206-44-0	Fluoranthène	5,1	
59	603-34-9	Triphénylamine	5,7	
60	50-29-3	DDT	6,5	

7. DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Estimation préliminaire du coefficient de partage

16. Si besoin est, le coefficient de partage de la substance d'essai peut être estimé, de préférence par une méthode de calcul (voir l'Annexe), ou le cas échéant, en utilisant le rapport de solubilité de la substance d'essai dans les solvants purs.

Appareillage

17. Un chromatographe en phase liquide équipé d'une pompe à basse impulsion et d'un système de détection approprié est nécessaire. Un détecteur UV, utilisant une longueur d'ondes de 210 nm, ou un détecteur RI conviennent pour une large gamme de groupes chimiques. La présence de groupes polaires dans la phase stationnaire peut gravement perturber les performances de la colonne HPLC. Par conséquent, il convient que les phases stationnaires comptent un pourcentage aussi réduit que possible de groupes polaires (15). Des ensembles phase inverse à microparticules ou des colonnes prêtes à l'emploi proposés dans le commerce peuvent être utilisés. Une colonne de garde peut être positionnée entre le système d'injection et la colonne analytique.

Phase mobile

18. On utilise du méthanol pour HPLC et de l'eau distillée ou dé-ionisée pour préparer le solvant d'élution, qui est ensuite dégazé avant utilisation. Il convient d'employer l'élution isocratique. Des rapports méthanol/eau avec une teneur minimale en eau de 25 pour cent doivent être utilisés. Généralement, un mélange méthanol-eau 3:1 (v/v) convient pour les substances éluantes avec un log P de 6 en une heure, à un débit de 1 ml/min. Pour les substances avec un log P supérieur à 6, il peut être nécessaire de raccourcir le temps d'élution (et ceux des composés de référence) en diminuant la polarité de la phase mobile ou la longueur de la colonne.

19. La substance d'essai et les substances de référence doivent être solubles dans la phase mobile, à une concentration suffisante pour permettre leur détection. Des additifs peuvent être utilisés avec le mélange méthanol-eau, mais dans des cas exceptionnels uniquement dans la mesure où ils modifient les propriétés de la colonne. Dans ces cas-là, il faut confirmer que le temps de rétention des substances d'essai et de référence ne sont pas influencés. Si un mélange méthanol-eau n'est pas approprié, d'autres mélanges solvant organique-eau peuvent être utilisés : par exemple, éthanol-eau, acétonitrile-eau ou alcool isopropylique (2-propanol)-eau.

20. Le pH de l'éluant est un facteur critique pour les substances ionisables. Il doit être compris dans la plage opérationnelle de la colonne, soit généralement entre 2 et 8. Le tamponnage est recommandé. Toutes les précautions doivent être prises pour éviter la précipitation saline et la détérioration de la colonne qui peuvent survenir avec certains mélanges phase organique/tampon. Les mesures HPLC effectuées avec des phases stationnaires à base de silice au-delà d'un pH 8 ne sont pas recommandées, du fait que l'emploi d'une phase mobile alcaline est susceptible d'entraîner une détérioration rapide des performances de la colonne.

Solutés

21. Les substances d'essai et de référence doivent être suffisamment pures pour permettre l'attribution précise des pics figurant sur les chromatogrammes aux différentes substances. Si possible, les substances utilisées en essai ou pour l'étalonnage sont dissoutes dans la phase mobile. Si un solvant autre que la phase mobile est utilisé pour dissoudre les substances d'essai et de référence, la phase mobile doit être utilisée pour la dilution finale avant injection.

Conditions expérimentales

22. Au cours des mesures, la température ne doit pas varier de plus de ± 1 °C.

Détermination du temps mort t_0

23. Le temps mort t_0 peut être mesuré à partir des substances organiques non retenues (thiourée ou formamide, par exemple). Un temps mort plus précis peut être dérivé des temps de rétention mesurés ou d'un ensemble d'approximativement sept membres d'une série homologue (cétones n-alkyl méthyl, par exemple) (16). Un tracé des temps de rétention $t_R(n_C+1)$ est relevé en fonction de $t_R(n_C)$, où n_C est le nombre d'atomes de carbone. On obtient une droite, $t_R(n_C+1) = A t_R(n_C) + (1-A)t_0$, où A, représentant $k(n_C+1)/k(n_C)$, est constant. Le temps mort t_0 est obtenu à partir du point de rencontre $(1-A)t_0$ et de la pente A.

Annex A. Équation de régression

24. L'étape suivante consiste à tracer un log de corrélation k en fonction d'un log P pour les substances de référence appropriées avec des valeurs log P proches de la valeur attendue pour la substance d'essai. Dans la pratique, entre 6 et 10 substances de référence sont injectées simultanément. Les temps de rétention sont déterminés, de préférence sur un intégrateur d'enregistrement raccordé au système de détection. Les logarithmes correspondants des facteurs de capacité, log k , sont tracés comme une fonction de log P . L'équation de régression est exécutée à intervalles réguliers, au moins une fois par jour, de façon à prendre en compte les modifications éventuelles des performances de la colonne.

Détermination du P_{0E} de la substance d'essai

25. On injecte la substance d'essai dans les plus petites quantités décelables. Le temps de rétention est déterminé lors d'une procédure identique. Le coefficient de partage de la substance d'essai est obtenu par interpolation du facteur de capacité calculé sur le graphique d'étalonnage. Pour les coefficients de partage très bas ou très élevés, l'extrapolation est nécessaire. Dans ces cas, une attention particulière doit être portée aux limites de confiance de la ligne de régression. Si le temps de rétention de l'échantillon est en dehors de la plage des temps de rétention obtenus pour les standards, une valeur limite doit être précisée.

Résultats et rapport

Rapport d'essai

26. Le rapport d'essai doit comporter les informations suivantes :
- le cas échéant, l'estimation préliminaire du coefficient de partage, les valeurs estimées et la méthode utilisée ; et si une méthode de calcul a été utilisée, sa description complète, avec l'identification de la base de données et une information détaillée sur le choix des fragments ;
 - substances d'essai et de référence : pureté, formule structurale et numéro CAS ;
 - description de l'équipement et des conditions opérationnelles : colonne analytique, colonne de garde ;
 - phase mobile, moyens de détection, plage de températures, pH ;
 - profils d'élution (chromatogrammes) ;
 - temps mort et méthode de mesure ;
 - données de rétention et valeurs log P_{0e} dans la littérature pour les substances de référence utilisées lors de l'étalonnage ;
 - détails sur la ligne de régression ajustée (log k en fonction de log P_{0e}) et le coefficient de corrélation de la ligne, avec les intervalles de confiance ;
 - données moyennes de rétention et valeur log P_{0e} interpolée pour la substance d'essai ;
 - dans le cas d'un mélange : chromatogramme du profil d'élution avec valeurs de seuil indiquées ;

- valeurs $\log P_{oe}$ par rapport au pourcentage de surface du pic $\log P_{oe}$;
- calcul à l'aide d'une ligne de régression ;
- valeurs $\log P_{oe}$ moyennes pondérées calculées, le cas échéant.

BIBLIOGRAPHIE

1. C.V. Eadsforth and P. Moser. (1983). Assessment of Reverse Phase Chromatographic Methods for Determining Partition Coefficients. *Chemosphere*. 12, 1459.
2. W. Klein, W. Kördel, M. Weiss et H.J. Poremski. (1988). Updating of the OECD Test Guideline 107 Partition Coefficient n-Octanol-Water, OECD Laboratory Intercomparison Test on the HPLC Method. *Chemosphere*. 17, 361.
3. C.V. Eadsforth. (1986). Application of Reverse H.P.L.C. for the Determination of Partition Coefficient. *Pesticide Science*. 17, 311.
4. H. Ellgehausen, C. D'Hondt et R. Fuerer. (1981). Reversed-phase chromatography as a general method for determining octan-1-ol/water partition coefficients. *Pesticide Science*. 12, 219.
5. B. McDuffie. Estimation of Octanol Water Partition Coefficients for Organic Pollutants Using Reverse Phase High Pressure Liquid Chromatography. (1981). *Chemosphere*. 10, 73.
6. OSPAR (1995). "Harmonised Offshore Chemicals Notification Format (HOCFN) 1995", Oslo and Paris Conventions for the Prevention of Marine Pollution Programmes and Measures Committee (PRAM), Annex 10, Oviedo, 20–24 février 1995.
7. M. Thatcher, M. Robinson, L. R. Henriquez et C. C. Karman. (1999). An User Guide for the Evaluation of Chemicals Used and Discharged Offshore, A CIN Revised CHARM III Report 1999. Version 1.0, 3. Août.
8. E. A. Vik, S. Bakke et K. Bansal. (1998). Partitioning of Chemicals. Important Factors in Exposure Assessment of Offshore Discharges. *Environmental Modelling & Software* Vol. 13, pp. 529-537.
9. L.O. Renberg, S.G. Sundstroem et K. Sundh-Nygård. (1980) Partition coefficients of organic chemicals derived from reversed-phase thin-layer chromatography. Evaluation of methods and application on phosphate esters, polychlorinated paraffins and some PCB-substitutes., *Chemosphere* 9, 683.
10. W.E. Hammers, G.J.Meurs et C.L. De-Ligny. (1982). Correlations between liquid chromatographic capacity ratio data on Lichrosorb RP-18 and partition coefficients in the octanol-water system., *J. Chromatography*. 247, 1.
11. J.E. Haky et A.M. Young. (1984) Evaluation of a simple HPLC correlation method for the estimation of the octanol-water partition coefficients of organic compounds. *J. Liq. Chromatography*. 7, 675.
12. S. Fujisawa et E. Masuhara. (1981). Determination of Partition Coefficients of Acrylates Methacrylates and Vinyl Monomers Using High Performance Liquid Chromatography *Journal of Biomedical Materials Research*. 15, 787.
13. C. Hansch et A. J. Leo. (1979). Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology. John Willey, New York.
14. C. Hansch, président ; A.J. Leo, dir. (1982). Log P and Parameter Database: A tool for the quantitative prediction of bioactivity - Available from Pomona College Medical Chemistry Project, Pomona College, Claremont, Californie 91711.
15. R. F. Rekker, H. M. de Kort. (1979). The hydrophobic fragmental constant: An extension to a 1000 data point set. *Eur. J. Med. Chem. – Chim. Ther.* 14, 479.

16. G.E. Berendsen, P.J. Schoenmakers, L. de Galan, G. Vigh, Z. Varga-Puchony, et J. Inczédy. (1980) On determination of hold-up time in reversed-phase liquid chromatography. *J. Liq. Chromato.* 3, 1669.

Annexe B.

MÉTHODES DE CALCUL DU P_{oe}

Introduction

17. Cette annexe propose une rapide introduction au calcul du P_{oe} . Pour plus d'informations, se reporter aux ouvrages (1)(2).
18. Les valeurs calculées du P_{oe} sont utilisées pour :
 - choisir la méthode expérimentale à utiliser : méthode Shake Flask pour un $\log P_{oe}$ entre -2 et 4, et méthode HPLC pour un $\log P_{oe}$ entre 0 et 6 ;
 - sélectionner les conditions à utiliser en HPLC (substances de référence, ratio méthanol/eau) ;
 - contrôler la plausibilité des valeurs obtenues par les méthodes expérimentales ;
 - proposer une estimation lorsque les méthodes expérimentales ne peuvent pas être appliquées.

Principe des méthodes de calcul

1. Les méthodes de calcul proposées ici sont basées sur la fragmentation théorique de la molécule en sous-structures pour lesquelles on connaît des incréments $\log P_{oe}$ fiables. Le $\log P_{oe}$ est obtenu par addition des valeurs fragmentales et des termes correctifs pour les interactions intramoléculaires. Des listes de constantes fragmentales et de termes correctifs sont données dans les ouvrages (1)(2)(3)(4)(5)(6). Certaines sont régulièrement mises à jour (3).

Fiabilité des valeurs calculées

2. En général, la fiabilité des méthodes de calcul diminue à mesure qu'augmente la complexité de la substance étudiée. Dans le cas des molécules simples, de faible poids moléculaire et avec un ou deux groupes fonctionnels, on peut tabler sur une déviation de 0,1 à 0,3 unités de $\log P_{oe}$ entre les résultats des différentes méthodes de fragmentation et les valeurs mesurées. La marge d'erreur dépend de la fiabilité des constantes fragmentales utilisées, de la capacité à reconnaître les interactions intramoléculaires (liaisons hydrogène, par exemple) et de l'utilisation appropriée des termes correctifs. Dans le cas des substances ionisantes, la charge et le degré de l'ionisation doivent être prises en compte (10).

Méthode π de Fujita-Hansch

3. La constante du substituant hydrophobe, π , introduite à l'origine par Fujita *et al.* (7) est définie de la manière suivante :

$$\pi_X = \log P_{oe}(\text{PhX}) - \log P_{oe}(\text{PhH})$$

où PhX est un dérivé aromatique et PhH la substance mère.

$$\begin{aligned}
 \text{Par exemple } \pi_{\text{Cl}} &= \log P_{\text{oe}}(\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}) - \log P_{\text{oe}}(\text{C}_6\text{H}_6) \\
 &= 2,84 - 2,13 \\
 &= 0,71
 \end{aligned}$$

La méthode π est avant tout intéressante pour les substances aromatiques. Les valeurs π d'un grand nombre de substituants sont disponibles dans la littérature (4)(5).

Méthode de Rekker

4. Avec la méthode de Rekker (8), la valeur $\log P_{\text{oe}}$ est calculée de la manière suivante :

$$\text{Log } P_{\text{oe}} = \sum_i a_i f_i + \sum_j (\text{termes d'interaction})$$

où a_i est le nombre de fragments identiques dans une molécule, et f_i l'incrément $\log P_{\text{oe}}$ du fragment. Les termes d'interaction peuvent être exprimés sous forme d'un multiple intégral d'une constante C_m (la fameuse « constante magique »). Les constantes fragmentales f_i et C_m ont été déterminées à partir d'une liste de 1 054 valeurs P_{oe} expérimentales de 825 substances à l'aide d'une analyse de régression multiple (6)(8). La détermination des termes d'interaction est menée selon les règles fixées (6)(8)(9).

Méthode de Hansch-Leo

5. Avec la méthode de Hansch et Leo (4), la valeur $\log P_{\text{oe}}$ est calculée de la manière suivante :

$$\text{Log } P_{\text{oe}} = \sum_i a_i f_i + \sum_j b_j F_j$$

où f_i est une constante fragmentale, F_j un terme correctif (facteur), a_i et b_j les fréquences d'occurrence correspondantes. Les listes des valeurs fragmentales atomiques et de groupe, et des termes correctifs F_j , ont été dérivées par une méthode empirique à partir de valeurs P_{oe} expérimentales. Les termes correctifs ont été divisés en plusieurs classes différentes (1)(4). Des logiciels prenant en compte l'ensemble des règles et termes correctifs ont été développés (3).

Méthode combinée

6. Le calcul du $\log P_{\text{oe}}$ des molécules complexes peut être considérablement amélioré, si ces molécules sont disséquées en sous-structures importantes pour lesquelles on dispose de valeurs $\log P_{\text{oe}}$ fiables, soit proposées dans la littérature (3)(4) soit provenant de mesures. Ces fragments (hétérocycles, anthraquinone, azobenzène, par exemple) peuvent ensuite être combinés avec les valeurs de Hansch- π , ou avec les constantes fragmentales de Rekker ou Leo.

Remarques

1. Les méthodes de calcul sont applicables uniquement à des substances partiellement ou complètement ionisées, lorsque les facteurs correctifs nécessaires ont été pris en compte.
2. Dans l'hypothèse qu'il existe des liaisons hydrogène intramoléculaires, les termes correctifs correspondants (approximativement +0,6 à +1,0 unité $\log P_{\text{oe}}$) doivent être ajoutés (1). Des modèles stéréo et autres données spectroscopiques peuvent donner des indications sur la présence éventuelle de telles liaisons.

3. Si plusieurs formes tautomériques sont possibles, la forme la plus probable doit être utilisée comme base pour le calcul.
4. Les révisions des listes de constantes fragmentales doivent être suivies avec attention.

5.

BIBLIOGRAPHIE SUR LES MÉTHODES DE CALCUL

- W.J. Lyman, W.F. Reehl et D.H. Rosenblatt (dir. publ.). Handbook of Chemical Property Estimation Methods, McGraw-Hill, New York (1982).
- W.J. Dunn, J.H. Block et R.S. Pearlman (dir. publ.). Partition Coefficient, Determination and Estimation, Pergamon Press, Elmsford (New York) et Oxford (1986).
- Pomona College, Medicinal Chemistry Project, Claremont, Californie 91711, Etats-Unis, Log P Database and Med. Chem. Software (Program CLOGP-3).
- C. Hansch et A.J. Leo. Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology, John Wiley, New York (1979).
- Leo, C. Hansch et D. Elkins. (1971) Partition coefficients and their uses., *Chemical . Reviews.* 71, 525 (1971).
- R. F. Rekker, H. M. de Kort. (1979). The hydrophobic fragmental constant: An extension to a 1000 data point set. *Eur. J. Med. Chem. – Chim. Ther.* 14, 479.
- Toshio Fujita, Junkichi Iwasa & Corwin Hansch (1964). A New Substituent Constant, π , Derived from Partition Coefficients. *J. Amer. Chem. Soc.* 86, 5175.
- R.F. Rekker. The Hydrophobic Fragmental Constant, Pharmacology Library, Vol. 1, Elsevier, New York (1977).
- C.V. Eadsforth et P. Moser. (1983). Assessment of Reverse Phase Chromatographic Methods for Determining Partition Coefficients. *Chemosphere.* 12, 1459.
- R.A. Scherrer. ACS - Symposium Series 255, p. 225, American Chemical Society, Washington, D.C. (1984).