

# VÝZNAM, HISTORIE A UŽITÍ ROZDĚLOVACÍHO KOEFIČIENTU LÁTEK MEZI VODU A OKTAN-1-OL

*Státní zdravotní ústav, Praha,  
Šrobárova 48, 100 42 Praha 10, e-mail: [rucki@szu.cz](mailto:rucki@szu.cz)*

© Marian Rucki, Miloň Tichý, 2008

## Historie

Rozdělení solutu mezi dvě fáze, ve kterých je rozpustný, bylo předmětem experimentů a studií po mnoho let. Jedna z prvních technik, která toto rozdělení využívala, byla izolace přírodních produktů, jako jsou například esence z květin.

První systematická studie o rozdělení látky mezi dvě nemísitelné kapaliny, která vedla k teorii s možností předpovědi, byla provedena Berthelotem a Jungfleischem. V práci se jednalo o přesné měření množství  $I_2$  a  $Br_2$  v rovnováze v systému  $CS_2$ /voda.

Z těchto prvních výzkumů vyplynul fakt, že poměr koncentrací solutu rozděleného mezi dvě nemísitelné fáze je konstantní a nezávisí na relativním objemu použitých rozpouštědel.

V roce 1891 přispěl významně k problému W. Nernst. Zdůraznil fakt, že rozdělovací koeficient bude konstantní jenom tehdy, jestliže při rozdělení mezi dvě fáze je uvažována jen jedna molekulová forma látky.

Jako primární příklad exaktnějšího vyjádření rozdělovacího zákona bylo použito rozdělení benzoové kyseliny mezi benzen a vodu:

$$K = \sqrt{C_B} / C_V$$

kde  $C_B$  je koncentrace benzoové kyseliny v benzenu (tvoří dimerní formu),  $C_V$  je koncentrace benzoové kyseliny ve vodě a  $K$  je konstanta kombinující rozdělovací koeficient pro monomer benzoové kyseliny a dimerizační konstantu kyseliny v benzenu.

**Na přelomu 19. a 20. století se o rozdělovací koeficient začali mimo fyzikálních chemiků zajímat i farmakologové, hlavně díky pracím, jejichž autory byli Meye a Overton.**

**V pracích bylo ukázáno, že relativní narkotické působení léčiv se často podobá jejich rozdělovacím koeficientům systému olej/voda.**

**Nicméně korelace takzvané nespecifické narkotické účinnosti s rozdělovacími koeficienty nevedla k žádné skutečně vhodné generalizaci v pochopení mechanismu účinku léčiv v širším smyslu.**

**Současně však prudce poklesl zájem obou skupin o rozdělovací koeficienty.**

**Začátkem 60. let dvacátého století se v práci od Hansch et al objevuje využití rozdělovacího koeficientu mezi oktanol a vodu (P) pro korelaci s biologickou aktivitou fenoxycetových kyselin a pokládá tak základy QSAR (quantitative structure –activity relationship).**

**Hned za touto prací následoval sled další tři Hansch et al, týkající se pesticidů, Hansch et al týkající se korelace mezi biologickou aktivitou stanovenou na bakteriích, larvách, hmyzu a hlodavcích a chemickou strukturou a Fujita et al týkající se nových substitučních konstant odvozených z rozdělovacích koeficientů oktanol-voda P, které odstartovaly nebývalý zájem o tuto problematiku.**

**Současně se zájmen o rozdělovací koeficienty ze strany farmakologů a biologů, začal i velký rozvoj studii kolem slabých interakcí (van der Waalsovy slabé interakce), které jsou zodpovědné i za ustanovení rovnováhy mezi dvěma fázemi . A tak se do zájmu fyzikálních chemiků opět dostal i rozdělovací koeficient.**

**Množství prací ukázalo, že parametr P byl užitečný pro korelační vztahy mezi změnou struktury chemikálií a změnou pozorovaného biologického, biochemického nebo toxického účinku. Výsledná korelační rovnice pak mohla být použita pro odhad účinku např. nového léčiva, pro které hodnota P mohla být změřená nebo odhadnuta.**

**V posledních letech se rozdělovací koeficient oktanol/voda stává klíčovým parametrem ve studiích o osudu organických látek v životním prostředí.**

**Bylo nalezeno, že odpovídá za rozpustnost ve vodě, půda/sediment adsorpčním koeficientům a bio-koncentračním faktorům ve vodní biosféře.**

**Z důvodu zvýšeného používání P pro odhad výše zmíněných parametrů, je hodnota P uvedena v seznamu parametrů pro bezpečnostní listy, což je legislativně ustanoveno v zákonu 356/2003 Sb., který stanoví povinnost výrobců/dovozců/distributorů klasifikovat chemické látky podle určitých kritérií. Tyto vlastnosti se u nových látek stanovují metodikou, která je závazná.**

**Fyzikálně-chemické a výbušné vlastnosti se stanovují podle vyhlášky 222/2004 Sb., přičemž mezi nimi je i rozdělovací koeficient. Tato vlastnost se pak odrazí na bezpečnostním listu chemické látky nebo přípravku v bodě 9.**

## Definice P

Rozdělovací koeficient oktanol/voda P (také se používá  $K_{ow}$ ) je definovaný jako poměr koncentrace chemikálie v oktanolové fázi ke koncentraci ve vodné fázi dvoufázového systému oktanol/voda.

$$P = c(\text{oktanol}) / c(\text{voda})$$

Hodnota P je tedy bez jednotek.

Rozdělovací koeficient oktanol/voda P není to samé jako poměr rozpustnosti chemikálie v oktanolu k rozpustnosti ve vodě.

V rovnováze obsahuje organická fáze 2,3 mol/l vody a vodná fáze obsahuje 0,0045 mol/l oktanolu. Navíc se velmi často zjišťuje, že P je funkcí koncentrace stanovované látky pro koncentrace větší než 0,01 mol/l.



## Stanovení P

Stanovit hodnotu P požadované látky je možné buď přímým měřením metodou tzv. „třepací láhve“ nebo pomocí HPLC měřením retenčních časů na nepolárních kolonách.

Dále je možné hodnotu P vypočítat nebo odhadnout ať už z chemické struktury látky nebo ze znalostí rozdělovacích koeficientů pro jiné systémy.

## Přímé stanovení metodou „třepací láhve“

Při měření se používají velmi nízké koncentrace stanovované látky (menší než 0,01 mol/l), kdy  $P$  je jen velmi málo závislý na koncentraci dané látky.

Hodnoty  $P$  se obvykle měří za pokojové teploty (20 °C nebo 25 °C).

Účinek teploty není velký, obvykle v řádu 0,001 až 0,01 log  $P$  jednotek na stupeň a může být jak kladný tak záporný.

## Vlastní stanovení

- oktan-1-ol a voda nejvyšší možné čistoty .
- stanovovaná látka velmi čistá
- stanovovaná látka se přidá do systému oktanol/voda, intenzívně se třepe (cca 15 minut), pak mírné třepání (2-4 hod).
- systém se centrifuguje (cca 3 min),
- stanovení koncentrace látky v obou fázích.

## Stanovení metodou HPLC

**Výhoda metody HPLC oproti metodě „třepací láhve“ - není potřeba mít vzorek stanovované látky nejvyšší možné čistoty.**

**Někdy postačí i směs látek, je však nutné přesně identifikovat pík stanovované látky, což v některých případech může být obtížné.**

**Vlastní metoda spočívá v tom, že se stanoví retenční časy standardů, pro které je hodnota  $P$  známá a již změřená.**

**Stanovovaná látka by pak měla ležet uvnitř intervalu retenčních časů standardů. Tuto metodu však nelze použít pro silné kyseliny a zásady, komplexní sloučeniny kovů, povrchově aktivní látky a látky, které reagují s eluentem.**

## Výpočet hodnoty P

- Hanschova  $\pi$  metoda
- Rekkerova metoda
- Leova metoda
- Collanderova metoda
- Metoda aktivitních koeficientů

## Hanschova $\pi$ metoda

Konstanta hydrofobnosti substituentů  $\pi$ , zavedená Hanschem et al (v literatuře mylně uváděno Fujita et al, zde se jednalo již jen o přesnější určení  $\pi$  konstanty pro 67 funkčních skupin) je definována:

$$\pi = \log P_{R-X} - \log P_{R-H}$$

kde  $P_{R-X}$  je rozdělovací koeficient oktanol/voda substituované látky a  $P_{R-H}$  rozdělovací koeficient oktanol/voda nesubstituované látky.

Z definice plyne, že tato metoda je použitelná hlavně pro aromatické látky, v menší míře však i pro alifatické uhlovodíky. Nutnost znát hodnoty  $P$  pro strukturně podobné sloučeniny.

Hodnoty  $\pi$  byl pro velký počet substituentů uspořádány do tabulek. Používají se k výpočtu  $\log P$  jak celých molekul tak jejich fragmentů.

**Dále je třeba podotknout, že v současné době existuje množství komerčních programů, které umožňují výpočet hodnoty P pro danou látku.**

**Tyto programy používají jednu nebo více uvedených metod pro výpočet.**

**Z toho plyne fakt, že vypočtené hodnoty P pro jednu látku se budou lišit. Jako příklad je uveden výpočet P pro pesticid Thiacloprid.**

Počítačový program	Hodnota Log P	Sm. odchylka
SRC's LogKow (KowWin)	2,33	
CSLogPTM	1,80	0,43
logP	1,91	
PALLAS	1,88	
HyperChem24	2,31	
Databáze EPA	1,26	

Jak je z tabulky patrné, mohou se hodnoty log P pro danou látku lišit až o více než jeden řád. Vždy je proto nutné brát tento fakt v úvahu a nespoléhat se na to, že vypočtené hodnoty budou odpovídat přesně skutečnosti.

Experimentální hodnota pro Thiachlopid, stanovená metodou třepací láhve, má hodnotu:

$$\log P = 1,30 \pm 0,024$$

Jedná se o průměr vypočtený s 12 měření.

**Děkuji Vám za pozornost!**