

Simulering af stoffers membranpermeabilitet

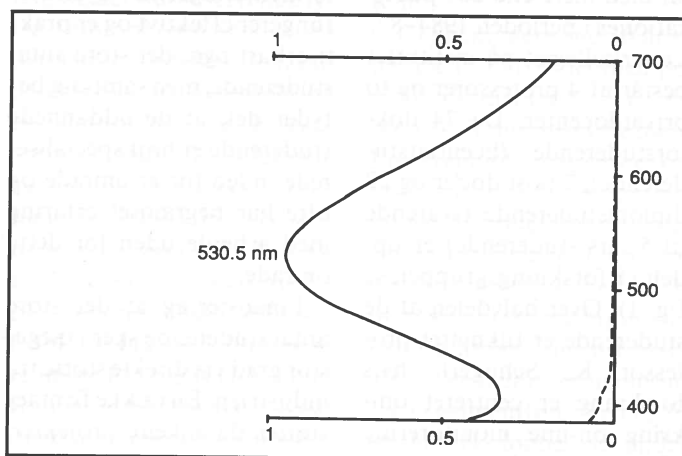
Af Poul Erik Hansen og Jens Josephsen,
Institut for Biologi og Kemi, Roskilde Universitetscenter

Det er en velkendt sag, at ikke alt der fortæres optages lige effektivt. Menstruerende, bloddonorer og andre brugere af jern-tabletter kan på mørkfarvningen af afføringen se, at optagelsen af jern ikke er fuldstændig.

Det har naturligvis interesse at vide, i hvilket omfang et stof optages – det være sig et lægemiddel eller en uønsket miljøgift. Optagelsen og den fysiologiske effekt afhænger bl.a. af om stoffet nemt kan passere cellemembraner. De færreste stoffer transporteres aktivt over cellemembraner, og de fleste må nøjes med at diffundere passivt langs en koncentrationsgradient. Cellemembranernes phospholipider tillader passage af mindre, uladete molekyler. Passagen har naturligvis både en kinetisk og en ligevægt dimension. Den sidste – en slags statisk membranpermeabilitet – kan simuleres ved stoffets opløselighed i en upolær, lipidlignende fase relativt til en vandfase – eller bedre, ved fordelingsforholdet af stoffet mellem de to faser. Olivenolie har været anvendt som upolær fase (2). I det følgende benyttes 1-octanol (1,3) med hvilket et mål for salicylsyre's permeabilitet kan bestemmes. Med valget af salicylsyre kan protolysegradens indflydelse på fordelingen desuden demonstreres ved at ændre pH i den vandige fase; dette forhold er ikke mindst relevant i forbindelse med optagelse via fordøjelseskanalen.

Princip

En afmålt mængde vandig



opløsning af salicylsyre med kendt koncentration udrystes med et kendt volumen 1-octanol, hvorefter restkoncentrationen af salicylsyre i vandfasen bestemmes spektrofotometrisk. Det intensivt violette jern(III)-salicylatkompleks, $[\text{Fe}(\text{sal}(\text{H}_2\text{O})_4)]^+$ med et absorptionsmaksimum ved 530 nm, gør det muligt at foretage en nem og nøjagtig bestemmelse af koncentrationen ud fra en kalibreringskurve.

Kalibrering

Det er praktisk at benytte følgende fire opløsninger:

A: $1,0 \cdot 10^{-2}$ M salicylsyre

B: $1,0 \cdot 10^{-3}$ M salicylsyre

C: 1,0 M salpetersyre

D: 0,2 M jern(III) nitrat i 0,01 M salpetersyre

En tilstrækkeligt nøjagtig kalibreringskurve kan opnås ved at benytte 5 mL stangpipetter til fremstilling af 10 standardopløsninger. Hver opløsning består af 2,0 mL D, 5,0 mL C, X mL B, Y mL A og $(4,0 - X - Y)$ mL vand.

(X, Y) = (0,0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 1/2,0; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0;).

Med en 1 cm kyvette fås passende absorbanser ved ca. 530 nm, jf. figuren, som

gengiver resultatet for blindprøven og den mest koncentrerede opløsning.

Fordelingsforsøg

25,0 mL 0,01 M salicylsyreopløsning (opl. A) plus 2,5 mL vand (mål pH) udrystes i skilletragt med 2,0 mL octanol. Efter faseadskillelsen lukkes ca. 10 mL vandfase ud, hvorfra der udtages 4,0 mL, som blandes med 5,0 mL salpetersyre (opl. C) g 2,0 mL jern(III)opløsning (opl. D). Absorbansen ved 530 nm tillader v.h.a. kalibreringskurven en koncentrationsbestemmelse og dermed en bestemmelse af fordelingen. Denne fordeling er en tilnærmelse til fordelingsforholdet.

I det næste fordelingsforsøg gentages proceduren med 25,0 mL salicylsyreopløsning

(opl. A), hvortil der er sat 2,5 mL 0,10 M natriumhydroxid hvorpå pH er blevet målt. Koncentrationsbestemmelsen i vandfasen sker som ovenfor. Fordelingen ses at være meget pH-afhængig, hvilket kan erkendes ved beregningsmæssigt at tage højde for salicylsyres første syrestyrkekonstant.

Et fordelingsforhold for selve stoffet på 100-1000 lover godt for membranpermeabiliteten.

Litteratur:

1. Niels-Erik Földberg, Poul Erik Hansen og Jens Josephsen: »Smertekemi«. Skrifter fra Institut for Biologi og Kemi, nr. 5 (1987).
2. R. Collander: *Physiol. Plant* 7 (1954) 420.
3. W.D. Stein: »Transport and Diffusion across Cell Membranes«. Academic Press, Orlando, (1986) Kap 2.4

- Klinisk Kemiske Reagenser
- Biokemikalier
- Vævsdykningsmedier
- Elektroforesereagenser
- Radioaktive isotoper
- Stabile isotoper

interkemi

Valmuevej 4 . 3450 Allerød

Telefon: *42 27 66 27

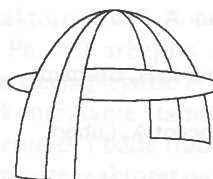
Telefax: 42 27 23 32

Telex: 40 896 inkemi

DATAOP SAMLING

-A/D Konvertering

-Datakommunikation



ARCTIC aps

Hjortekærvej 99B

DK-2800 Lyngby

Tel. 45 933830

Fax. 45 930353