

紫菜多糖 Fe(III) 配合物的生物利用度初步研究

孟凡德 赵全芹 李明霞(济南 250012 山东大学化学化工学院)

摘要 目的:本文对新型营养型补铁剂紫菜多糖 Fe(III) 配合物的生物利用度进行了初步研究。方法:紫菜多糖 Fe(III) 配合物能溶于水且水溶液呈中性,在 pH 值 3~12 范围内测定此配合物的水解情况没有沉淀出现,可望有较好的生物利用度。结果:在 37℃ 和模拟体液中,测定紫菜多糖 Fe(III) 配合物的动力学实验,此配合物的 Fe(III) 能够被还原剂抗坏血酸还原成 Fe(II),说明该配合物能被食物中的还原剂还原,尔后被体内吸收。紫菜多糖 Fe(III) 配合物的溶出性能研究表明,此配合物中的 Fe(III) 6h 基本溶出。结论:紫菜多糖 Fe(III) 配合物生物利用度初步研究,表明紫菜多糖 Fe(III) 配合物在人体内维持较高浓度时间,有利于机体的吸收。

关键词 紫菜多糖 Fe(III) 配合物;生物利用度;补铁剂

A primary study on the bioavailability of Porphra polysaccharide Fe(III) complex

Meng Fande Zhao Quanqin Li Mingxia(College of chemistry and engineering shandong university, Jinan, 250012)

ABSTRACT OBJECTIVE: A new nutrition iron supplementary-porphra polysaccharide iron(III) complex (PTC) has been prepared. **METHOD:** PTC was able to dissolve water and its solution assumed neutral. **RESULTS:** The hydrolysis of PTC was studied at pH ranging from 3 to 11 and no precipitates and has been reduced from Fe(III) to Fe(II) by reductant. **CONCLUSION:** This complex was able to improve bioavailability of iron supplementary.

KEY WORDS porphra polysaccharide, bioavailability, iron supplementary

铁是人体中必需的微量元素,铁的主要生理功能是参加机体内部氧的运送和组织呼吸过程,细胞色素酶系统、过氧化氢酶及过氧化酶等含铁酶中控制着体内的氧化、水解和转化。人体中铁的来源主要来自食物中如动物的肝及其它脏器、蛋黄及红色瘦肉等,另外来自植物中的绿色蔬菜、有色水果、海带及木耳等有色食品。但体内铁缺乏或铁利用不良时,则会出现缺铁症或缺铁性贫血,尤其是 4 个月以上的儿童、妊娠、授乳、月经期的妇女,食物铁供给不足造成的缺铁性贫血和缺铁症是世界性的营养铁缺乏病之一。目前,国内外临床上一般以硫酸亚铁、葡萄糖酸亚铁等作为补铁剂,但常伴有胃肠刺激副作用和生物利用度低、化学稳定性差的问题,并且 Fe(II) 在体内易产生内源性自由基导致细胞膜脂质过氧化造成细胞膜损伤^[1]。经实验证明,食物中的铁为 Fe(III),在体内,食物中所含有的还原性物质如抗坏血酸、含巯基化合物将 Fe(III) 还原成 Fe(II),尔后被体内吸收^[2]。多糖 Fe(III) 配合物作为补铁剂不仅具有合适的稳定性和溶出性能,而且释放出 Fe(III) 后配体多糖不会对身体产生副作用和毒性,还能促进铁的吸收和利用。为此,我们制备了紫菜多糖 Fe(III) 配合物并且测定了此配合物的溶出性能,对其生物利用度作了初步研究。

1 材料方法及结果

1.1 仪器与材料

721 可见紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂),PE-

783 红外分光光度计(PEKIN; MIMER 公司),量热滴定测定仪(自行研制),PHS-10A 型数字酸度/离子计(萧山科学仪器厂),80-1 型超速离心机(上海手术仪器厂),紫菜多糖(本室自行提取),柠檬酸钠 wister 大鼠。

1.2 方法与结果

1.2.1 紫菜多糖 Fe(III) 配合物的制备

取 4.5% 的紫菜多糖 100 ml 加入到 500 ml 的三颈烧瓶中,尔后加入 0.15 mol·L⁻¹ 的柠檬酸钠溶液 180 ml,再加入一定量的 Na₂CO₃ 溶液 50 ml,混合后加入 0.45 mol·L⁻¹ 的 FeCl₃ 水溶液 180 ml,用 NaOH 调节溶液的 pH 值在一定范围,在 100℃ 下回流 5h,60℃ 浓缩棕色溶液,用 95% 乙醇醇析,离心分离,沉淀用无水乙醇、无水乙醚洗涤、干燥,得棕色固体,然后重结晶得精品紫菜多糖 Fe(III) 配合物(PTC)。此配合物是无定形棕色粉末,无嗅,能溶于水且在水溶液呈中性,但不溶于乙醇、乙醚等有机溶剂。

1.2.2 紫菜多糖 Fe(III) 配合物的水解实验

紫菜多糖 Fe(III) 配合物、FeCl₃、FeSO₄ 三种铁剂在不同 pH 时的水解情况。补铁剂在铁吸收的主要部位——十二指肠是否可溶是补铁剂生物利用度高低的主要指标之一。

配制 FeCl₃、FeSO₄、PTC 的浓度为 0.01 mol·L⁻¹ (PTC 中 Fe 含量为 0.01 mol·L⁻¹),准确量取 20.00 ml 上述各溶液分别被 0.01 mol·L⁻¹ NaOH 标准溶液滴定,同时用 pH 酸度计测定溶液的 pH 值,得到滴定曲线见图 1。

此课题为山东省卫生厅基金课题。作者简介:孟凡德,男,硕士,副教授。主要从事药物合成及计算机药物模拟。

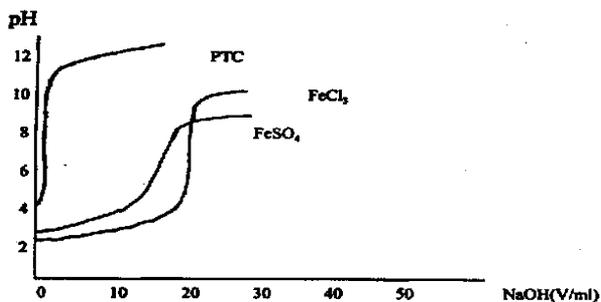


图1 3种铁剂的NaOH滴定曲线

实验测得上述三种铁剂在不同pH值的水解情况。 FeCl_3 开始浑浊时的pH值为2.65,出现大量沉淀时的pH值为6.72, FeSO_4 开始浑浊时的pH值为3.34,出现大量沉淀时pH值为6.79,PTC在pH为3~11范围内溶液呈澄清无沉淀的溶液。

1.2.3 紫菜多糖Fe(III)配合物的还原性实验

用抗坏血酸为还原剂,用邻菲罗啉分光光度法测定PTC还原过程Fe(III)浓度变化。

配制PTC中Fe(III)浓度为 $0.001 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,加入适量的抗坏血酸还原,用邻菲罗啉显色,在510nm处测定不同时间的吸光度。如图2。

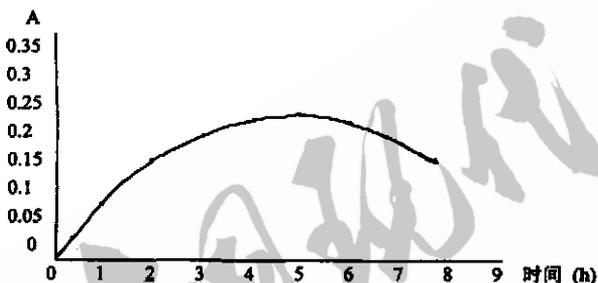


图2 紫菜多糖Fe(III)配合物与维生素C反应速度曲线

紫菜多糖Fe(III) ($C = 3.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

实验测得,紫菜多糖Fe(III)配合物中的Fe(III)在6h内基本溶出。

1.2.4 紫菜多糖Fe(III)配合物溶出性能研究

用量热滴定法研究紫菜多糖Fe(III)配合物中Fe(III)的溶出性能。量热滴定法是以测定体系的温度变化为基础的分析方法。将紫菜多糖Fe(III)配合物配制成约含铁量为 $0.001000 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液置于反应器中,尔后加入抗坏血酸标准溶液 $0.05102 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别测定在0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0h温度的变化,以标准溶液的消耗体积为横坐标,以温度变化为纵坐标,测定紫菜多糖Fe(III)配合物在37℃生理体液中不同时间的Fe(III)的含量。见表。

紫菜多糖Fe(III)配合物中的溶出Fe(III)含量表

时间(h)	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0
含量(%)	6.6	11.8	16.4	21.7	24.3	24.6

此表显示,紫菜多糖Fe(III)配合物中的Fe(III)有还原性物质作用时,能够溶出Fe(II),且Fe(III)在6h内基本溶出。

1.2.5 紫菜多糖Fe(III)配合物生物利用度初步研究

选择健康wister大鼠12只,体重200g左右,随机分成两组,每组6只,雌雄各半,以 FeSO_4 为对照组,以PTC组为实验组。将大鼠禁食不断水12h后,从眼底取血测其血清中铁浓度作 $t=0$ 时的浓度,然后按kg体重5mg铁的量分别灌胃给药,对照组给药 FeSO_4 ,实验组给药PTC。给药后分别在 $t=1.0、2.0、4.0、6.0、8.0$ h从眼底取血;用AAS(原子吸收分光光度计)测其血清中铁浓度。

血样处理及AAS测定Fe含量,于试管中准确加入1.6ml重蒸水,20%三氯乙酸200ml,混合均匀后加入200ml鼠血清,充分振荡,在80℃左右水浴中保持15min,冷却离心,上清液待ASS测定。ASS的工作条件入射光波长248.3nm,狭缝0.2nm,灯电流为12.0mA。测定结果见图。

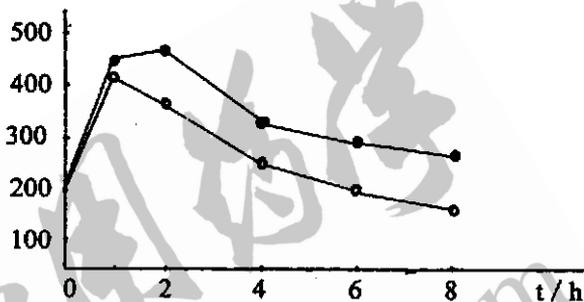


图3 一次口服药时一量曲线($n=6$)

从上图看出,大鼠对 FeSO_4 中的铁和对PTC中的铁的吸收速率相似,但PTC组血清铁维持较高浓度时间较长,这便入机体吸收。根据图3,用残数法可以计算出PTC的生物利用度是73.16%,而 FeSO_4 是47.35%,PTC的生物利用度是 FeSO_4 1.5倍多,故PTC有其较高的生物利用度。

2 讨论

2.1 为了结果的准确性,实验过程所用的所有玻璃器皿洗后用EDTA溶液浸泡24h,尔后用新蒸的蒸馏水、重蒸水洗涤干净。

2.2 紫菜多糖Fe(III)配合物在生理条件下可溶。铁的主要吸收部位是十二指肠($\text{pH}=6\sim7$),在十二指肠补铁剂是否可溶是判断补铁剂生物利用度的高低的主要指标。对 FeCl_3 、 FeSO_4 、PTC三种补铁剂在不同pH值下的水解情况进行比较, FeCl_3 、 FeSO_4 在pH分别为2.65、3.24开始沉淀,在 $\text{pH}=6\sim7$ 的生理体液时, FeCl_3 、 FeSO_4 均已出现大量沉淀,说明 FeCl_3 、 FeSO_4 在生理体液下生成不被生物利用的氢氧化物。而PTC在pH值为3~12范围内均以可溶状态存在,故可推测PTC可能有较好的生物利用度。

2.3 用抗血酸作还原剂测定PTC还原过程Fe(III)浓度变化证实,此配合物中的Fe(III)能够较迅速的还原。这说明PTC若作为补铁剂可被食物中的还原性物质将Fe(III)还原成Fe(II)被人体吸收。

2.4 紫菜多糖Fe(III)配合物溶出性能研究,PTC中Fe(III)在6h基本溶出,溶出时间较长,这样有利于机体对铁的摄取利用。为此我们认为PTC是一种生物利用度高、副作用小,可望成为一种新型的营养型补铁剂,有着广泛的开发前景。

参考文献

- 1 Phillip S ,Evan H .Defective Iron uptake by the duodenum of belgarrade rats fed diets of different iron contents . Am .J .physical ,270 , 1996 ,G826 .
- 2 Dutra de Oliveira J E , Marina L S , Jacob F . Iron from complex salts and its bioavailability to rats . Internat . J . Vit . Nutr . Res , 1995 ,65 :272 .

收稿日期 :2001 - 02 - 26