

284-286

氯化血红素抗贫血疗效和毒性

R 965.3

R 994.1

游开绍, 吴斌, 黄自强¹, 张桎², 潘林金¹, 吴国土¹, 赵子庆, 黄妙辉 (福建医学院附属第一医院,¹福建医学院药理学教研室, 福州 350005; ²福建省医学科学研究所生化研究室, 福州 350003, 中国)

Effect of hemin in treating hemorrhagic anemia and toxicity

YOU Kai-Shao, WU Bin, HUANG Zi-Qiang¹, ZHANG Cheng², PAN Lin-Jin¹, WU Guo-Tu¹, ZHAO Zi-Qing, HUANG Miao-Hui (The 1st affiliated hospital, ¹Department of Pharmacology, Fujian Medical College, Fuzhou 350005; ²Department of Biochemistry, Fujian Medical Science Institute, Fuzhou 350003, China)

KEY WORDS hemin; hypochromic anemia; toxicology; Sprague-Dawley rats; inbred ICR mice

AIM: To study the effect of hemin in treating hemorrhagic anemia and toxicity. **METHODS:** Fifty rats with hemorrhagic anemia were randomly divided into 5 groups with different dosage of hemin (93, 168, 300 mg·kg⁻¹·d⁻¹), ferrous gluconate (FG 300 mg·kg⁻¹·d⁻¹), and water, ig for 7 d. Twenty mice fed with hemin (6.0 g·kg⁻¹·d⁻¹) in 24 h for observing acute toxicity effects. Long-term toxicity were observed in 80 rats given hemin (0.65, 1.3, 2.6 g·kg⁻¹·d⁻¹) in 3 months. **RESULTS:** Hb of the rats of corresponding groups were 66→121, 71→141, 66→148, 69→140, and 67→112 g·L⁻¹. There were no adverse effects observed on acute toxicity test. No abnormalitis were found in hemogram, liver renal function test, and autopsy. **CONCLUSION:** Hemin had a better effect than FG and no adverse effect was found in hemin.

关键词 氯化血红素; 低色素性贫血; 毒理学; 近交系大鼠; 近交 ICR 小鼠

A 目的: 探讨氯化血红素(hemin)治疗贫血的疗效及其口服的毒性反应。 **方法:** 用自制的 hemin 按每日 93, 168, 300 mg·kg⁻¹ 治疗失血性贫血大鼠, 并与葡萄糖酸亚铁 (FG 300 mg·kg⁻¹·d⁻¹) 治疗组

及单纯给水组比较。 24 h 内对 20 只小鼠予 hemin 6 g·kg⁻¹ 灌胃以观察小鼠的急性毒性反应。 对 80 只大鼠连续 3 个月分别予 hemin 0.65, 1.3, 2.6 g·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃, 观察大鼠的长期毒性反应。 **结果:** 治疗后各组 Hb 变化依次为 66→121, 71→141, 66→148, 69→141, 67→112 g·L⁻¹; 观察 7 d 未见小鼠急性毒性反应; 用药 3 个月对 80 只大鼠进行血象检查、肝肾功能检查及 15 个脏器组织活检均未见明显异常。 **结论:** Hemin 抗贫血疗效优于 FG; 口服无任何毒副作用

缺血性贫血主要是由于铁的来源绝大多数是植物性食品, 利用率低^[1]。 氯化血红素(hemin)是吸收率最高的生物态铁剂^[2-4], 可作为补铁剂^[5-7], 我国研究甚少^[8, 9], 且缺乏对照组^[9]; 国内外未见口服毒性试验的报告。 我们进行了 hemin 抗贫血疗效和口服毒性观察。

MATERIALS AND METHODS

鼠 实验用 SD 大鼠 120 只, ICR 小鼠 20 只均购自上海 Sipper-BK 实验动物供应有限公司(清洁级), 并在福建医学院基础动物实验室饲养(闽医动条 920007)。 大鼠体重 104±s 6 g, 小鼠体重 20.0±s 2.0 g, 均为♀♂各半。

铁源 hemin 是以新鲜猪血→血凝块→血红蛋白(Hb)液体→缓缓加入到热 HAc-NaCl 液中→含氯化血红素液体→沉淀→乙酸洗、水洗、乙醇洗及干燥→hemin。

成品为黑色粉末, 纯度>96%; UV 吸收光谱分析与美国 Sigma 公司 hemin 一致^[10]。 Pb<48.3 nmol·L⁻¹, As<133.5 nmol·L⁻¹。 葡萄糖酸亚铁(ferrous gluconate, FG)为广西梧州制药厂产品, 每支 10 mL, 含 FG 300 mg。

抗贫血效果 大鼠 50 只, 按性别、体重分成 5 组。 断尾放血 0.3 mL·kg⁻¹, 测定失血前、失血后 24 h Hb。 A 组为空白对照组, 予水灌胃, B 组为阳性对照组, 予 FG 灌胃, 剂量均为 10 mL·kg⁻¹·d⁻¹; C, D, E 组为实验组, 均予 hemin 灌胃, 剂量分别为 93, 168, 300 mg·kg⁻¹·d⁻¹。 各组均每日灌胃 1 次, 连续 7 d。 于 d 8 复查 Hb。 用氯化高铁氧化法测定(721 型分光光度计)。

急性毒性试验 限度试验小鼠 20 只, 用 hemin 60 g

Tab 1. Effect of hemin on hemoglobin ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) in rats. $n = 10$. $\bar{x} \pm s$.
^a $P < 0.01$ vs group A. ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ vs group B.

Group	Dose/ $\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Iron/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Before bleeding	After bleeding	After treatment	Enhancement/ %
A Water	10 mL		129 \pm 7	67 \pm 9	112 \pm 9	45 \pm 5
B FG	300 mg	38	128 \pm 5	69 \pm 16	140 \pm 5 ^c	71 \pm 7 ^c
C Hemin	93 mg	7.6	128 \pm 6	66 \pm 11	121 \pm 10 ^d	55 \pm 3 ^d
D Hemin	168 mg	14	128 \pm 5	71 \pm 10	141 \pm 6 ^c	69 \pm 5 ^c
E Hemin	300 mg	25	128 \pm 5	66 \pm 10	148 \pm 3 ^{ce}	81 \pm 10 ^{ce}

$\cdot\text{L}^{-1}$, 每次 1 mL 容量多次灌胃, 在 24 h 内给 $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 而后观察 7 d.

长期毒性试验 大鼠 80 只, 按性别、体重随机分成 4 组, I 组为对照组, 予水灌胃, 剂量 $10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; II, III, IV 组为给药组, 分别给予 hemin 0.65, 1.3, 2.6 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; 每日一次灌胃, 连续给药 3 个月. 观察一般表现, 每月测量体重一次, 疗程结束时检查血常规、肝功能、肾功能, 并活杀取脑、心、肺、肝、脾、肾、肾上腺、胃、小肠、子宫或睾丸、附睾、前列腺、胸腺及淋巴结进行病理检查.

RESULTS

抗贫血效果 治疗后, 各 hemin 治疗组 Hb 均高于给水组 ($P < 0.01$); $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ hemin 治疗组 Hb 高于 FG 组 ($P < 0.05$), $168\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ hemin 治疗组 Hb 与 FG 组相近 ($P > 0.05$) (Tab 1).

急性毒性试验 hemin 灌胃后, 小鼠活动正常, 食量无改变; 体重增加 $2.43 \pm s 0.85\text{ g}$. 无死亡.

长期毒性实验 给药后活动正常, 食量无改变, 各组给药前后体重与对照组比较, 均无显著差异 ($P > 0.05$) (Tab 2). IV 组血小板数高于对照组 ($P < 0.05$), II 组红细胞计数低于对照组 ($P < 0.05$); 但是, 各组值均在正常范围内. 治疗三个月后, 各组丙氨酸转氨酶、总蛋白、清蛋白、总胆红素、肌肝、尿素氮均在正常范围, 各剂量 hemin 组与给水组比较, 均无明显差异 (P 均 > 0.05) (Tab 3).

病理检查发现 IV 组 1 只大鼠肺泡腔炎症细胞堆积, 支气管周围淋巴结细胞包绕, 肝细胞水肿, 汇管区炎症细胞浸润, 肾小球毛细血管充血, 肾

Tab 2. Weight (mg) of rats on 3 months of hemin. $\bar{x} \pm s$.
^a $P > 0.05$ vs water group.

Month	Water/ 10 mL $\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Hemin/ 0.65 g $\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Hemin/ 1.3 g $\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	Hemin/ 2.6 g $\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$
	105 \pm 6	105 \pm 6 ^a	105 \pm 8 ^a	104 \pm 6 ^a
1	209 \pm 25	211 \pm 87 ^a	200 \pm 20 ^a	192 \pm 22 ^a
2	257 \pm 46	280 \pm 53 ^a	270 \pm 48 ^a	254 \pm 34 ^a
3	310 \pm 57	315 \pm 73 ^a	312 \pm 64 ^a	310 \pm 43 ^a

小管上皮浊肿. 其他大鼠未见异常.

DISCUSSION

本组资料中, 各剂量的氯化血红素对失血性贫血大鼠均有明显的治疗作用, 并呈量效关系. 由于氯化血红素分子量大, 本文中, D 组(每天实际给元素铁 $14\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的疗效就与 FG 组(每天实际给元素铁 $38\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)相似; E 组(每天实际给元素铁 $25\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的疗效明显优于 FG 组. 而 C 组(每天实际给元素铁 $7.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)尽管疗效不如 FG 组, 但每天所给元素铁量仅为 FG 组的 1/5 量, 已可使贫血大鼠的 Hb 水平显著升高, 治疗后 Hb 明显高于给水组. 因此可以认为氯化血红素治疗贫血的效果优于葡萄糖酸亚铁. 本文实验结果发现无法测出氯化血红素的口服半数致死量; 进行限度试验, 24 h 内予氯化血红素 $6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 灌胃, 未见毒副反应, 与文献报告的临床推荐用量 $1.5\text{ g}\cdot\text{d}^{-1}$ 比较^[9], 按体重计算超过 200 倍, 提示氯化血红素口服无毒性作用. 长期毒性试验发现: 连续三个月予大剂量氯化血红素灌胃, 大鼠活动仍正常, 食欲良好, 体重继续增长, 血象

Tab 3. Change of hemogram, liver and renal function test in rats. $n = 20$, $\bar{x} \pm s$. $^b P < 0.05$ vs water group.

	Water/ $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	Hemin/ $0.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	Hemin/ $1.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	Hemin/ $2.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$
Hb/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	149 ± 5	143.2 ± 2.5	137 ± 6	152 ± 6
$10^{-10} \times \text{RBC} \cdot \text{L}^{-1}$	686 ± 49	626 ± 16	596 ± 40 ^b	624 ± 40
$10^{-9} \times \text{BPC} \cdot \text{L}^{-1}$	328 ± 67	326 ± 83	420 ± 92	458 ± 100 ^b
$10^{-9} \times \text{Reticulocyte} \cdot \text{L}^{-1}$	16 ± 6	14.6 ± 2.4	16 ± 3	16 ± 2
$10^{-9} \times \text{WBC} \cdot \text{L}^{-1}$	10 ± 3	11 ± 2	11 ± 3	9 ± 1
Neutrophil/%	6.2 ± 1.7	7.2 ± 2.8	10.0 ± 2.6	12 ± 6
Lymphocyte/%	93.2 ± 1.7	93 ± 3	89 ± 4	87 ± 6
Eosinophil/%	0.6 ± 0.8	0.2 ± 0.4	1.0 ± 1.6	0.2 ± 0.4
AAT/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	14.2 ± 2.5	10.2 ± 2.0	14.4 ± 0.8	10.6 ± 1.5
TP/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	65 ± 5	61 ± 2	62 ± 3	63 ± 4
Alb/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	42 ± 6	41 ± 5	40 ± 4	37 ± 2
TB/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	4.6 ± 0.8	3.9 ± 0.9	4.9 ± 0.6	3.9 ± 0.3
Cr/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	69 ± 10	53 ± 12	71 ± 11	75 ± 4
BuN/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	4.8 ± 1.3	4.6 ± 0.2	4.8 ± 0.5	4.9 ± 0.6

检查、肝、肾功能以及 15 个脏器组织检查未见明显异常，其剂量按体重计算，最大剂量已超过临床推荐用量 87 倍，说明长期使用氯化血红素是极为安全的，无任何毒副反应。

REFERENCES

- 1 Frank AO. Iron deficiency in infancy and childhood. *N Engl J Med* 1993; **329**: 190-3.
- 2 Tang M, Liang J. Brief introduction in application research on bio-microelement. *Chin J Hosp Pharm* 1990; **10**: 363.
- 3 Conrad ME, Benjamin BI, Williams HL, Foy AL. Human absorption of hemoglobin-iron. *Gastroenterology* 1967; **53**: 5-10.
- 4 Lynch SR, Dassenko SA, Morck TA, Beard JL, Cook JD. Soy protein products and heme iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1985; **41**: 13-20.
- 5 Tang ML, Jin YY. Progress in application research on heme. *Pharm Ind* 1985; **16**: 373-40.
- 6 Walter T, Hertrampf E, Pizarro F, Olivares M, Llaguno S, Letelier A, et al. Effect of bovine-hemoglobin-fortified cookies on iron status of school children: a nationwide program in Chile. *Am J Clin Nutr* 1993; **57**: 190-4.
- 7 Nosaki S, Sakaguchi T. Heme iron in coordinate drink about "kaleimnia." *Food Ind* 1989; **32**: 60-5.
- 8 Zhu J, Shen J, Yang TC, Zhang CM. Heme extract and its enriched food. *Acta Nutr Sin* 1993; **15**: 69-72.
- 9 Xu YX, Duan XQ, Wen WL. Hemin in treating iron deficiency anemia in 30 patients. *New Drugs Clin Remedies* 1990; **9**: 353-4.
- 10 Yuan X, Hong Q, Chen Y. Determination of hemin in the oral hemin liquid by UV-spectrophotometry. *J Chin Pharm* 1994; **5**: 36-7.
- 11 Zhong CY, Ma FL. A study on the bioavailability of heme iron in rat. *Acta Nutr Sin* 1989; **11**: 135-40.