|  |
| --- |
| **실험17. 빈혈치료제에 함유된 철의 함량 결과보고서** |
| |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | | **실험일** | **제출함 No.** | **담당교수** | **점수** | | **Apr 20, 2023** |  | **박민진** |  | | **학과** | **학번** | **이름** | | **화학과** | **2023160236** | **정원준** |  1. **Abstract**   베르너가 분광학적 특성을 토대로 배위 화합물에 대한 가설을 제시한 이래로 배위 화합물 이론은 전이 금속과 그 착화합물의 물리적 성질을 예측하고 해석하는 중심 이론이다. 나아가 전이금속 착이온에 대한 분광분석법은 CFT, LFT 등 무기화학 연구의 기초가 된다. 본 연구에서는 빈혈치료제로부터 중성 리간드 1,10-phenathroline(phen)로 배위된 철의 착이온 [Fe(phen)3]2+를 합성하여 빈혈치료제 속 철을 정량하였다. 연구 과정에서 빈혈치료제는 코팅을 벗긴 후 9.8mg을 취하여 사용했다. 또한 환원제인 hydroxylamine hydrochloride가 기능할 수 있는 pH 8의 buffer solution을 제작하여 실험에 활용하였다. 이때 cuvette solution은 HCl을 용매로 하여 교반한 빈혈치료제 용액을 취한 후 1,10-phenathroline monohydrochloride monohydrate 용액, hydroxylamine hydrochloride 용액, pH 8의 buffer solution을 교반하는 과정을 거쳐 10배로 희석하였다. 일련의 과정을 거쳐 얻은 용액은 UV-Vis를 이용하는 분광분석법을 통해 빈혈치료제 sample에서의 철을 정량했다.  UV-Vis로 spectrum을 scan한 결과 약 510nm에서 peak를 갖는 것으로 확인됐으며, 이는 [Fe(phen)3]2+의 absorbance spectrum이 peak를 갖는 것으로 보고된 결과와 일치한다. 또한 Beer-Lambert Law로 [Fe(phen)3]2+ solution 100mL에서 철의 농도와 몰수를 구한 결과 M, mol의 결과를 얻을 수 있었으며, 비례 관계를 통해 빈혈치료제 1 pill에는 37.59mg의 철이 존재하는 것으로 조사됐다. 이때 참값 80.0mg/pill과 비교했을 때 결과는 약 53.02%의 오차로 얻어졌으며, 이는 시료를 취하는 과정 및 근사로 인해 발생한 것으로 사료된다. |
| **실험17. 빈혈치료제에 함유된 철의 함량 결과보고서** |
| 1. **Data & Results**   Figure 1 Absorbance spectrum of reagent   |  |  | | --- | --- | | 흡광도 (A510nm) | 0.286 | | 철착화합물 농도 (M) (c=A/εb, ε510nm = 11,100 M-1cm-1) |  | | 사용한 빈혈 치료제의 양 (mg) | 9.8 | | 착화합물 수용액1 속의 철의 몰수 (mol) |  | | 착화합물 수용액 속의 철의 질량 (mg) | 0.144 | | 빈혈치료제 1회분(256mg)의 철의 함량 (mg) | 37.59 | | 오차율 (%) (이론값 : 80.0 mg) | 53.02% |   **1.** 표에서 제시되는 착화합물 수용액이라는 표현이 다소 모호하다. 실험 중간에 철분제를 염산과 교반했을 때 노란 계열의 색상이 나타나는 것을 확인할 수 있는데, 이 또한 ligand로 H2O나 Cl-가 작용한 결과일 수 있다. 본 탐구에서는 ligand인 1,10-phenathroline을 추가하고, buffer condition까지 조정이 끝나 얻은 solution을 기준으로 계산하였다. 즉, 본 탐구에서의 철착화합물 수용액은 붉은색을 나타내게 되는 [Fe(phen)3]2+ 수용액을 기준으로 한다.   1. **Calculation & Analysis**   **III.1. 착화합물 속 철 정량**  (1) 철착화합물의 농도는 Beer-Lambert Law를 농도 항에 대해 정리하여 얻었다. Beer-Lambert law에서  이므로 로 구할 수 있다. 이때 사용한 cuvette cell의 두께(thickness, b)=1cm이므로 철착화합물 수용액의 농도는 다음과 같다.  (2) cuvette cell에 들어있는 용액은 100mL의 solution에서 소량 취하여 얻은 용액이다. 따라서 철착화합물 수용액에 100mL 존재하는 철의 몰수는 다음과 같이 구할 수 있다.  (3) 이때 iron의 molar mass 55.845g/mol을 활용하면 철착화합물 수용액 100mL 속 철의 질량을 구할 수 있다.  (4) 철착화합물 수용액을 얻기 위해서 빈혈치료제 용액 100mL 중 10mL만 취한 후, 1,10-phenathroline monohydrochloride monohydrate과 hydroxylamine hydrochloride, buffer solution을 활용하여 희석하였다. 즉, 철착화합물 수용액 100mL에는 초기에 사용한 빈혈치료제의 질량(initial mass)의 1/10만 존재한다. 따라서 초기 빈혈치료제 용액 속 철의 질량은 (3)에서 구한 철의 질량을 10배 해야 한다.  (5) 따라서 빈혈치료제 9.8mg에 들어있는 철의 질량은 1.44mg이다. 비례 관계를 이용하여 빈혈치료제 1 pill(=256mg)에 존재하는 철의 질량을 구할 수 있다.  (5) 오차는 퍼센트 오차의 공식 에 대입하여 계산하였다. 이때 실제 빈혈치료제 1 pill에 존재하는 철의 질량 80mg/pill을 사용했다.   1. **Discussions**   실험과정을 참고해서 다음 두가지 질문에 답하고 그 이유를 설명하시오.  1. 빈혈치료제를 섭취하기 가장 좋은 시기는 언제인가?  본 탐구에서는 분광분석법을 이용하여 256mg의 빈혈치료제(1 pill)에서 약 37.59mg(실젯값 80mg)의 철이 존재함을 규명했다. 이때 연구에서 사용한 빈혈 치료제는 철분제로, 철 성분을 함유하여 직접적으로 철을 혈액에 공급하는 방식이다. 철은 헤모글로빈의 구성 성분으로, 헤모글로빈은 혈색소로서 적혈구의 형성에 관여한다. 따라서 철이 부족하면 정상적으로 적혈구가 형성될 수 없어 (철 결핍성) 빈혈이 발생한다.  철분제는 성장기 아동과 같이 체내 철분 요구량이 증가하는 경우, 질병 등의 원인으로 철분 소실이 증가하는 경우, 식습관 등으로 인한 철분 섭취 및 흡수량의 감소로 인한 빈혈 증상에 대응하기 좋다1. 이때 철분제는 식후 2시간 뒤, 공복으로 섭취하는 것이 체내 흡수율을 가장 높일 수 있는 것으로 나타났다2 (서울아산병원, n.d.; 대전을지대학교병원, n.d.). 2시간 뒤 섭취를 권장하는 것은 섭취하는 영양분 속 tannin, phytate, polyphenol 등의 성분은 철과 결합하여 소장에서의 철의 흡수를 방해하기 때문이다. 더불어 십이지장에서는 무기물 흡수 이외에도 기계적 소화 과정 또한 담당하므로 영양소와 함께 빈혈치료제가 투입되는 것은 그 흡수율을 심각하게 떨어뜨리기 때문이다. 다만, 소화능력이 떨어지는 사람들의 경우 메스꺼움 등의 증상을 느끼는 경우가 있어 흡수율을 최대한 유지하면서 포만감이 유지되는 시간을 2시간으로 설정한 것으로 사료된다.  하지만 일각(유한양행, 2004)4에서는 같은 맥락에서도 흡수율을 높이기 위해 식전 1시간-2시간에 공복 상태로 섭취하는 것을 권장한다. 일련의 내용을 요약하자면 철분제(빈혈치료제)는 후술할 소화 과정을 고려했을 때 공복에 섭취하는 것이 흡수율을 높이는 방법이다. 하지만, 이 경우 소화 장애를 유발할 수 있으므로 대개 밥을 먹고 충분한 시간(2시간)이 지난 뒤 복용하는 것으로 판단된다.  2. 빈혈치료제를 섭취했을 때 철분의 섭취에 가장 큰 영향을 주는 신체기관은 어디인가?5  빈혈치료제 속 철분의 섭취에 가장 크게 관여하는 것은 소장(또는 십이지장)이다. 인간이 섭취하는 영양소에서 철 이온(III)은 과한 양전하를 갖기에 세포 내로 직접 수송되기 어렵다. 따라서 십이지장에 존재하는 dudodenal cytochrome B(DcytB)가 철(III) 이온을 철(II) 이온으로 환원시켜 양전하를 줄이고, 수송체인 Divalent metal transporter 1(DMT1)이 endocytosis 기작에 관여한다. 이후 흡수된 철(II) 이온은 수송 단백질인 FPN(ferroportin)에 의해 exocytosis되며, 산화 효소인 hephaestin(HEPH)에 의해 다시 철(III) 이온으로 산화된다. 이후 순환계에 의해 필요한 곳으로 수송되어 본연의 기능을 다하게 된다. 이때 철의 metabolism은 hormone인 hepcidin에 의해 regulation된다. 만일 유전적인 요인으로 regulating hormone인 hepcidin의 분비량에 문제가 생기거나, transporter(transport protein)인 FPN이나 DMT1이 inhibition될 경우 외부 철(III) 이온의 농도와 무관하게 흡수 이상이 발생한다. 이는 실험에서 사용한 철분제에서도 해당되는 사항으로, 철결핍성 빈혈이 아닌 경우에는 호르몬제 등 다른 빈혈치료제를 섭취해야 한다.  Figure 2 Brief Mechanism of Iron Metabolism  생명 시스템의 밀접성은 철분의 흡수와 배출에 소장만이 관여하는 것이 아님을 명확히 한다. 이때 실험에서는 pH 8인 buffer solution을 사용하여 환원제가 원활히 기능할 수 있도록 하였는데, 이는 철 화합물을 환원시켜 지속적으로 용해성을 유지하도록 하기 위함이다. 이때 위의 산성 조건, 음식물을 통해 섭취하는 citric acid와 ascorbic acid는 철(III) 이온의 환원제로 기능하며, 용해성을 유지하게 돕는다. 이에 반해 tannic acid, polyphenol 등은 철 화합물에 결합하여 철의 흡수를 방해하는 것으로 알려져 있다. 따라서 빈혈치료제를 통한 철의 흡수에 주된 작용을 하는 것은 소장이지만, 위 또한 acidic condition으로 흡수를 돕는 보조적인 역할을 수행함을 알 수 있다.  3. 모든 동물의 피는 붉은색일까? 다양한 동물의 피의 색을 조사해 보자. (2가지 이상. 단, 곤충의 경우는 제외)  인간의 피가 빨간색으로 보이는 것은 헤모글로빈 때문이다. 단순하게는 산화 철이 중심으로서 기능하기에 붉은색을 띤다고 볼 수 있다. 또한, 헤모글로빈은 붉은색 파장에 대한 상대적인 흡수 능력이 떨어지기에 붉은색을 띤다고 볼 수 있다. 따라서 헤모글로빈을 색소로 갖는 인간, 원숭이 등은 붉은색의 피를 갖는다.  반면, 헤모시아닌을 색소로 갖는 생명체들도 있다6. 헤모시아닌은 헤모글로빈과 유사한 포르피린 구조를 갖지만 그 중심 원소가 철이 아닌 구리이다. 따라서 산화 구리가 중심으로서 기능하기에 푸른색을 띤다고 볼 수 있다. 헤모시아닌의 경우 **Figure 2**의 spectrum에서 볼 수 있듯 파란색 빛(약 450nm) 정도의 파장을 흡수하는 능력이 매우 떨어지기에 푸른색을 띤다고 볼 수 있다. 따라서 헤모시아닌을 색소로 갖는 문어, 투구게 등은 푸른색의 피를 갖는다.  또한 헤메리트린(hemerythrin)을 혈색소로 갖는 생명체들도 있다. 헤메리트린은 헴 구조를 갖지 않지만, 여러 존재 형태의 분광학적 특성에 의해 자주색을 띠게 된다. 따라서 헤메리트린을 혈색소로 갖는 해양 무척추동물(개맛 등)의 경우 보라색 혈액을 갖는다10.  다음은 헤모글로빈과 헤모시아닌, 헤메리트린의 absorbance spectrum을 나타낸 것이다7,8,9 .  Absorption spectra of the oxygenated and deoxygenated hemoglobin... |  Download Scientific Diagram4.11: Nature of the Metal-Dioxygen Linkage in Biological Systems -  Chemistry LibreTexts  **[Figure 2]** Absorbance spectrum of Hemoglobin and Hemocyanin, Hemerythrin  본문에서 상술한 내용처럼 일련의 absorbance spectrum은 각각의 성분이 혈색소로 작용했을 때 나타내는 특징적인 색깔이 인과가 있음을 명확히 한다.   1. **References**   1. 서울대학교병원. 철결핍성 빈혈(iron deficiency anemia).  http://www.snuh.org/health/nMedInfo/nView.do?category=DIS&medid=AA000242  2. 서울아산병원. 철결핍성 빈혈(iron deficiency anemia)  <https://www.amc.seoul.kr/asan/healthinfo/disease/diseaseDetail.do?contentId=31629>  3. 대전을지대학교병원. 철결핍성 빈혈의 치료.  http://www.emc.ac.kr/clinic/clinic\_pg01\_01\_08.jsp?str\_page=3&dept=ABBGAA&board\_sequence=940&board\_code=BOARD\_167  4. 유한양행(2004). [우리 가족 건강가이드] 철 결핍성 빈혈.  https://www.yuhan.co.kr/Introduce/Health/index.asp?mode=view&Cateid=290&IDX=2329&p=174&sm=-1&listUrl=%2FMobile%2FIntroduce%2FHealth%2FSearch%2Findex%2Easp%3FCateid%3D290%26p%3D174  5. 서진경. 전인상(2018). 철 대사의 이해. *Clinical Pediatric Hematology-Oncology, 25(1).*  DOI: <http://doi.org/10.15264/cpho.2018.25.1.1>  6. 함예솔(2004). 파란 피 때문에 고통받는 ‘살아있는 화석’. 이웃집과학자.  <http://www.astronomer.rocks/news/articleView.html?idxno=89154>  7. *Image source:*  https://www.researchgate.net/profile/Ayal-Romem/publication/264009809/figure/fig1/AS:213862549856261@1428000213761/Absorption-spectra-of-the-oxygenated-and-deoxygenated-hemoglobin-molecules-Notes-In-the\_Q640.jpg  8. *Image source:*  <https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/art%3A10.1007%2Fs12595-019-00317-2/MediaObjects/12595_2019_317_Fig2_HTML.png>  9. *Image source:*  <https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Inorganic_Chemistry/Book3A_Bioinorganic_Chemistry_%28Bertini_et_al.%29/04%3A_Biological_and_Synthetic_Dioxygen_Carriers/4.11%3A_Nature_of_the_Metal-Dioxygen_Linkage_in_Biological_Systems>  10. 환경교육포털(2004). [칼럼]녹색 피를 가진 도마뱀이 있다?.  <https://keep.go.kr/portal/144?action=read&action-value=010f68803bd7721839504fd9b22e2c99&page=4> |