

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C07F 15/00

A61K 31/555

A61P 7/06

A61P 3/02

A23L 1/30



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510024984.8

[43] 公开日 2005 年 10 月 26 日

[11] 公开号 CN 1687089A

[22] 申请日 2005.4.8

[21] 申请号 200510024984.8

[71] 申请人 吴华君

地址 200940 上海市宝山区 47 弄 85 号

[72] 发明人 吴华君 潘小平 江世溢 张鲁雁

[74] 专利代理机构 上海新天专利代理有限公司

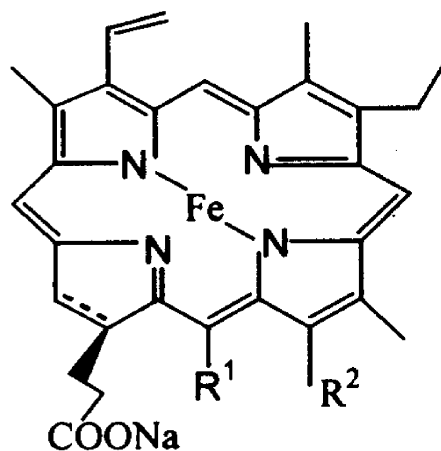
代理人 邬震中

权利要求书 4 页 说明书 13 页

[54] 发明名称 叶绿酸合铁钠盐衍生物、制备方法
及用途

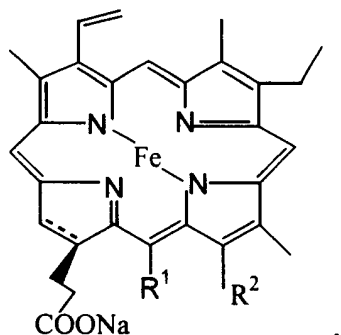
[57] 摘要

本发明涉及一种叶绿酸衍生物合铁钠盐制备方法和用于制备治疗缺铁性贫血的保健品或药物, 该叶绿酸衍生物合铁钠盐, 其具有如图结构式: 其中 $R^1 = H$ 、 CH_3 或 CH_2COONa ; $R^2 = COONa$; 或 R^1 和 $R^2 = -CH(COONa)C(O)-$,是单键或无键。



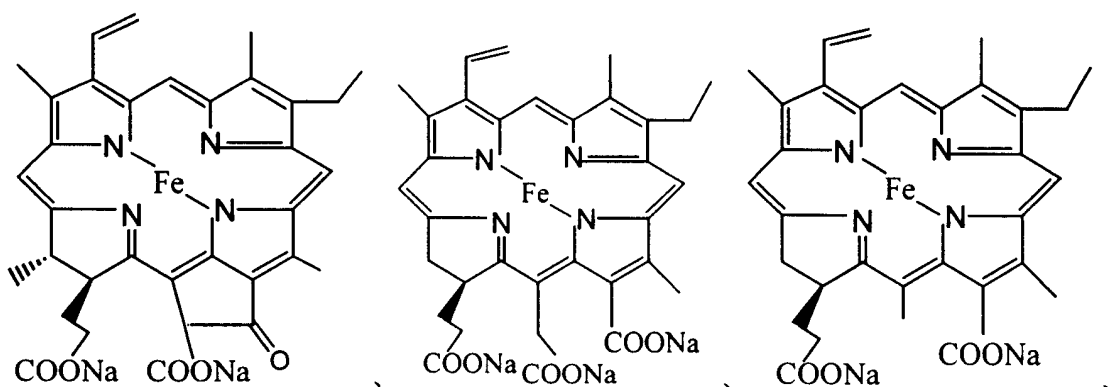
ISSN 1008-4274

1、一种叶绿酸衍生物合铁钠盐，其具有如下结构式：



其中 $R^1 = H$ 、 CH_3 或 CH_2COONa ； $R^2 = COONa$ ；或 R^1 和 $R^2 = -CH(COONa)C(O)-$ ；----- 是单键或无键。

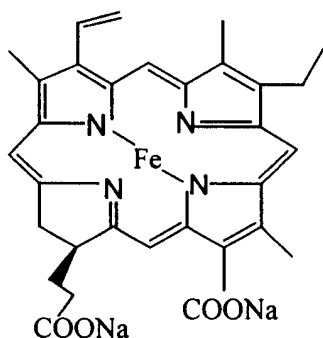
2、如权利要求 1 所述的叶绿酸衍生物合铁钠盐，其特征是具有如下结构式：



叶绿酸 a 合铁钠盐

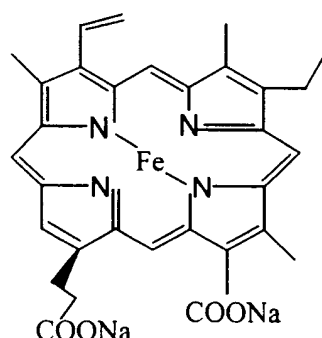
叶绿酸 e_6 合铁钠盐

叶绿酸 e_4 合铁钠盐



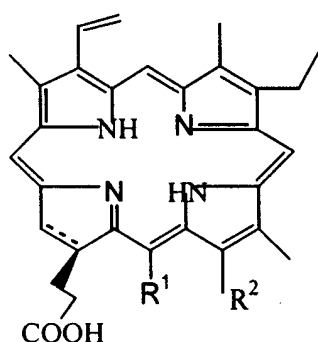
叶绿酸 f 合铁钠盐

或



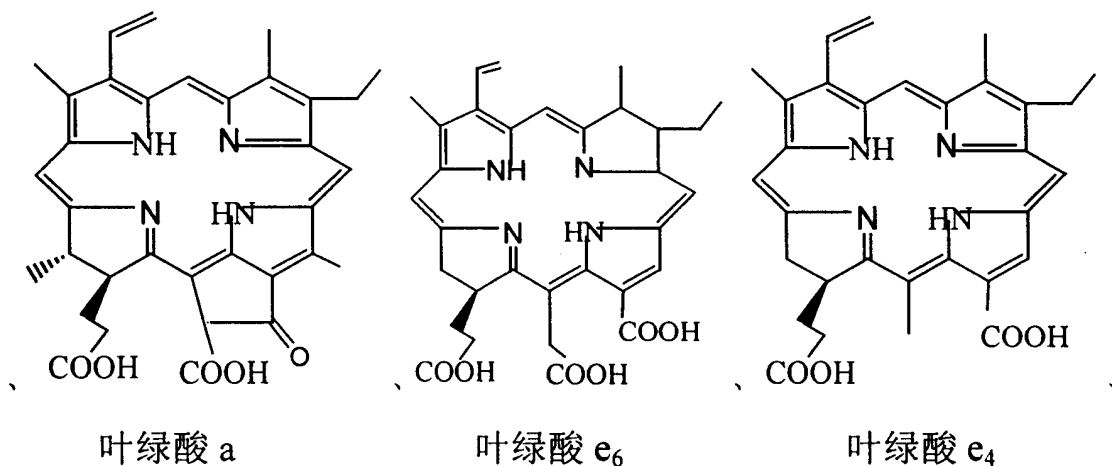
脱氢叶绿酸 f 合铁钠盐

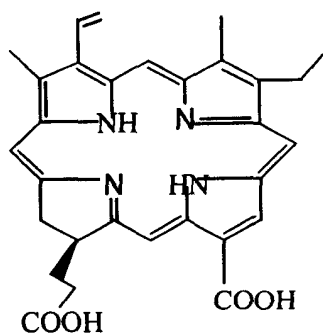
3、一种如权利要求 1 所述的叶绿酸衍生物合铁钠盐的制备方法，其特征是将叶绿酸衍生物溶于极性有机溶剂中，与亚铁化合物在 40-70℃ 反应 0.5-4 小时，过滤，洗去游离铁离子，加入 2-10% 的氢氧化钠水溶液，使其溶解，干燥；所述的叶绿酸衍生物、亚铁化合物和氢氧化钠的摩尔比为 1: 1-5: 2~3；所述的亚铁化合物是氯化亚铁、硫酸亚铁或醋酸亚铁，所述的叶绿酸衍生物具有如下结构式：



其中 R^1 、 R^2 和 ----- 如权利要求 1 所述。

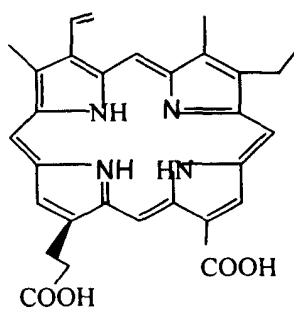
4、如权利要求 3 所述的叶绿酸衍生物合铁钠盐的制备方法，其特征是所述的叶绿酸衍生物具有如下结构式：





叶绿酸 f

或



脱氢叶绿酸 f

5、如权利要求 3 所述的叶绿酸衍生物合铁钠盐的制备方法，其特征是所述的叶绿酸衍物是由下述 (1)，(1) 和 (2)，(1) ~ (3)，(1) ~ (4) 或 (1) ~ (5) 五种方法获得：

(1) 粉碎的中药蚕砂，加 3-5 倍体积的极性有机溶剂，在 50-70℃浸 2-4 小时，过滤，滤液在 50-70℃蒸干，用等体积非极性有机溶剂提取 2-3 次，用酸水介获叶绿酸 a；或

(2) 在极性有机溶剂中于 40-70℃下，叶绿酸 a 和 10~20%的氢氧化钠水溶液反应 0.5-2 小时后，倒入 2-4 倍体积水中，用 5-20%HCl 调节 pH3，沉淀，过滤，干燥，获叶绿酸 e₆；或

(3) 叶绿酸 e₆溶于吡啶中，在回流温度下反应 0.5-2 小时，获叶绿酸 e₄；或

(4) 叶绿酸 e₆溶于吡啶中，加入 10~35%的氢氧化钾甲醇溶液，反应 0.5-2 小时，然后在惰性气体下回流 1-3 小时，加至 1-3 倍体积水中，用 HCl 调至 pH3，过滤，获得叶绿酸 f；或

(5) 叶绿酸 f 在二甲基吡啶中回流 10-20 小时，获脱氢叶绿酸 f；

其中叶绿酸 a、叶绿酸 e₄、叶绿酸 e₆、叶绿酸 f 和脱氢叶绿酸 f 的结构式同权利要求 4 所述。

6、一种如权利要求 1 所述的叶绿酸衍生物合铁钠盐的用途，其特征是用于制备治疗缺铁性贫血的药品或保健品。

叶绿酸合铁钠盐衍生物、制备方法及其用途

技术领域：

本发明涉及一种叶绿酸衍生物合铁钠盐衍生物、制备方法及其用途。可以由中药蚕砂为原料或由叶绿酸衍生物制得，具有明显改善缺铁性贫血的功能，可用于制备治疗缺铁性贫血的保健品和药物。

背景技术：

缺铁性贫血是一种常见病，根据世界卫生组织调查统计，全世界约有20亿人口患有不同程度的缺铁。《人民日报》2005年2月14日刊登卫生部副部长王陇德的文章《中国人需要一场膳食革命》中说“我国居民营养与健康状况调查显示，与膳食密切相关的慢性非传染性疾病患病率上升迅速，铁、维生素A等微量元素缺乏，在我国城乡普遍存在”。“缺铁是引致我国居民贫血的主要原因，平均贫血患病率为15.2%，2岁以内婴幼儿高达24.2%，即平均4个婴幼儿中就有一个贫血”。中医中药治疗贫血，已积累了丰富的经验，历代文献均有记载。明代《本草纲目》载蚕砂治“妇人血崩”，宋代《内经拾遗方编》载蚕砂能治“血瘀血少。”明代秘方《黄痛效药》中记载治疗血虚萎苔的主要药物为绿矾和醋煅针砂（天然硫酸亚铁和细小铁屑）。中药蚕砂含有丰富的叶绿素，魏克民（CN02111428.5）曾用碱性水解蚕砂法制备，得到降解产物铁钠盐粗品，治疗缺铁性贫血。许德余报导了叶绿素a降解产物铜、钴和锌的金属络合物、制备方法及其抗胃溃疡药物（CN99119878.6），还报导了二氢卟吩e₆-甲酯金属络合物及其合成方法（CN94112189.5）。

本发明将中药蚕砂进行酸性降解、分离、提取等得到叶绿酸衍生物，如叶绿酸 a、叶绿酸 e₆、叶绿酸 e₄、叶绿酸 f 或脱氢叶绿等化合物，分别络合铁后再制成相应钠盐，经动物实验证明，每个化合物铁钠盐样品，均有明显改善缺铁性贫血的功能。

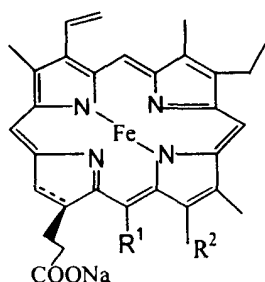
发明内容：

本发明目的提供一种叶绿酸衍生物合铁钠盐衍生物。

本发明的目的还提供一种上述的叶绿酸衍生物合铁钠盐衍生物的制备方法。

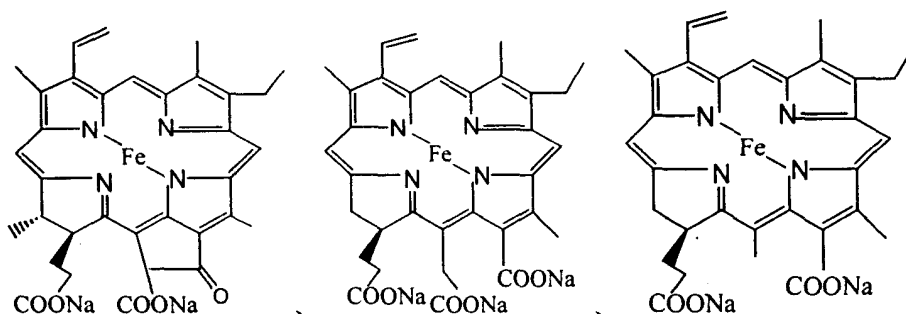
本发明另一目的是提供一种上述的叶绿酸衍生物合铁钠盐衍生物的运用。

本发明的叶绿酸衍生物合铁钠盐具有如下结构式：



其中， $R^1 = H$, $COONa$ 或 CH_2COONa , $R^2 = H$ 或 $COONa$, 或者 R^1 和 $R^2 = -CH(COONa)C(O)-$; ----- 单键或无键。

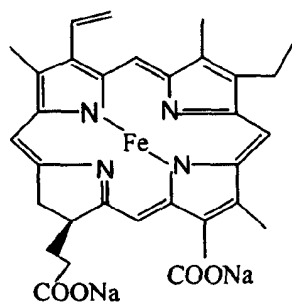
本发明的叶绿酸衍生物合铁钠盐可以如下结构式：



叶绿酸 a 合铁钠盐

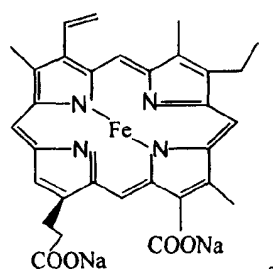
叶绿酸 e₆ 合铁钠盐

叶绿酸 e₄ 合铁钠盐



叶绿酸 f 合铁钠盐

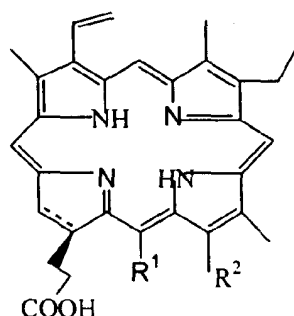
或



脱氢叶绿酸 f 合铁钠盐

本发明的叶绿酸衍生物合铁钠盐可以由叶绿酸衍生物为原料，在极性溶剂中和 PH 3~4 条件下，加入亚铁化合物，如氯化亚铁、醋酸亚铁或硫酸亚铁，在 40-70℃ 反应 0.5-4 小时，过滤，水洗去游离铁离子，加入 2-10% NaOH 溶液，使其刚刚溶解，干燥，其中叶绿酸衍生物、亚铁化合物和氢氧化钠的摩尔比为 1: 1-5: 2-3。

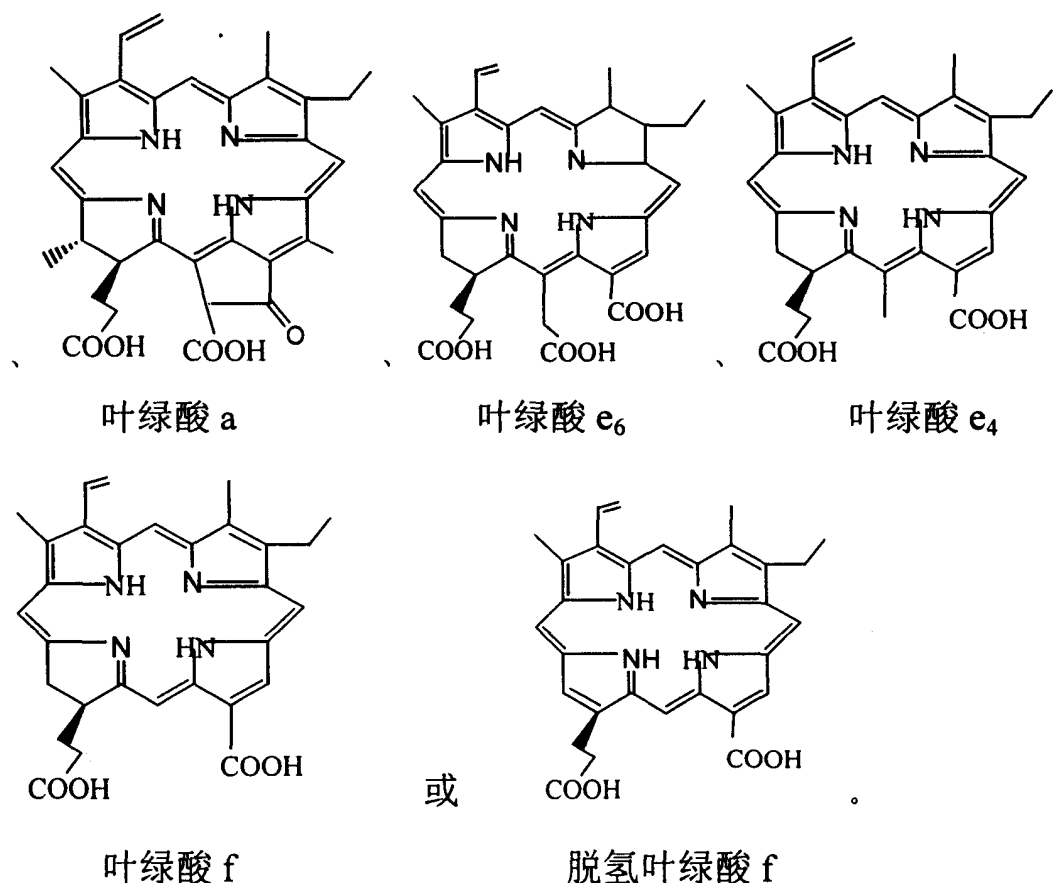
所述的叶绿酸衍生物具有如下的结构式：



其中 R^1 , R^2 和 ----- 如前所述。

本发明的叶绿酸衍生物合铁钠盐也可由中药蚕砂为原料，提取叶绿酸 a，再由叶绿酸 a 转化为叶绿酸 e₆，由叶绿酸 e₆ 分别转化为叶绿酸 e₄，叶绿酸 f，叶绿酸 f 还可以进一步转化为脱氢叶绿酸 f。

上述叶绿酸的结构式分别如下：



由叶绿酸 a、叶绿酸 e₄、叶绿酸 e₆、叶绿酸 f 和脱氢叶绿酸 f 分别转化成叶绿酸 a 合铁钠盐、叶绿酸 e₄ 合铁钠盐、叶绿酸 e₆ 合铁钠盐、叶绿酸 f 合铁钠盐和脱氢叶绿酸 f 合铁钠盐。

上述叶绿酸合铁钠盐的制备方法可以进一步描述如下：

中药蚕砂为原料、粉碎，加 3-5 倍体积的有机极性溶剂，在 50-70℃ 浸 2-4 小时，过滤，滤渣再浸提 2 次，合并滤液，滤液在 50-70℃ 用等体积非极性有机溶剂提取 2-3 次，去杂质，浓缩，用酸水介获得叶绿酸 a。

将叶绿酸 a 溶于极性有机溶剂中，与 10%~20%NaOH 水溶液，叶绿酸 a 和所述的氢氧化钠水溶液的重量体积比为 1:50~100，在 40-70℃ 反应 0.5-2 小时，倒入 2-4 倍水中，用 5-20%HCl 调节 pH3，沉淀，过滤，干燥。获叶绿酸 e₆。

将叶绿酸 e_6 溶于吡啶中，在回流温度下反应 0.5-2 小时，蒸除吡啶获得叶绿酸 e_4 。

将叶绿酸 e_6 溶于吡啶中，加入 10-35% 的氢氧化钾甲醇溶液，在氧气存在下，反应 0.5-2 小时，然后在惰性气体下回流 1-3 小时，加至 1-3 倍体积水中，用 5-20% HCl 调至 pH3，过滤沉淀，获得叶绿酸 f。

将叶绿酸 f 在二甲基吡啶中回流 10-20 小时，蒸除溶剂获脱氢叶绿酸 f。

将上述叶绿酸 a、叶绿酸 e_4 、叶绿酸 e_6 、叶绿酸 f 或脱氢叶绿酸 f 分别溶于极性有机溶剂中，加入氯化亚铁、醋酸亚铁或硫酸亚铁，在 pH3-4 条件下 40-70°C 反应 1-4 小时，过滤、用水洗去游离铁离子，加入 2-10% NaOH 溶液，使其刚刚溶解，并干燥，分别获得它们的铁钠盐。

所述的极性溶性可以是丙酮、甲醇、乙醇、乙腈、吡啶、二甲基吡啶或二甲基亚砷等，所述的非极性溶解可以是乙醚、石油醚、 C_6-C_{18} 的烷烃。

本发明的方法简便，适于工业生产，而且产品经动物试验证明具有改善缺铁性贫血的功能，可制备保健品和药物。

具体实施方式：

通过下述实施例将有助于理解本发明，但并不能限制本发明内容：

实施例中采用岛津 10AT 高压液相仪 (HPLC) 仪测定保留时间 (R_t)，采用 25×0.4mm, 5 μ m 的柱，流动相：(1) 醋酸铵：甲醇=2：8 (V/V)；(2) 丙酮：甲醇=1：1 (V/V)；梯度：(1) 0-15min；(2) 0-100%；

紫外光谱仪测定 UV 吸收峰，采用 Ion Spec HiRes, MALDI 质谱仪测定质谱；用 ThermoE IRIS Duo ICP 发射光谱仪测定铁含量。

实施例 1

叶绿酸 a 合铁钠盐的制备;

取中药蚕砂叶绿素提取物粗品 200g, 加 2 倍体积乙醚溶解, 再加入等体积的 36%盐酸, 在 40-60℃水浴中加热回流 45 分, 蒸去乙醚。冷却, 4℃放置过夜分层, 取酸液。用 40%NaOH 调节溶液的 pH 到 3, 有沉淀析出。滤取沉淀, 水洗, 干燥。得墨绿色叶绿酸 a 粗品。经硅胶柱液相层析(洗脱液, 丙酮: 甲醇: 甲酸=50: 25: 1, V/V), 得产品 7.58 克。

叶绿酸 a 的 HPLC 保留时间, 质谱及紫外光谱测定的结果如下:

HPLC 保留时间测定: $R_t = 11.823$ 分

MS m/z: $594(M+H+1)^+$, $593(M+H)^+$, $592(M)^+$.

UV $\lambda_{\max}(\text{nm})$: 664.5, 607.5, 536.5, 507.0, 409.5。

将上述叶绿酸 a 1g 溶于丙酮中, 加入 1g 硫酸亚铁在 50℃反应 3 小时, 过滤, 水洗, 加入 4%氢氧化钠水溶液, 使其刚刚溶解, 干燥, 获叶绿酸 a 合铁钠盐 1.15g. 叶绿酸 a 合铁钠盐的质谱、紫外光谱和含铁量的测定如下:

UV $\lambda_{\max}(\text{nm})$: 666.5, 623.0, 396.5。

MS m/z: $649(M+H)^+$, $648(M)^+$, $647(M-H)^+$, $646((M-H-1)^+)$.

含铁量测定: 6.571%。

实施例 2 叶绿酸 e₆ 合铁钠盐的制备

取叶绿酸 a 固体 5 克溶于 250ml 丙酮, 加 10%NaOH 水溶液 25ml, 置于 60℃水浴中反应, 保温搅拌 1 小时, 冷却后倒入 700ml 冷水中, 用 18%HCl 调节溶液的 pH 到 3, 有沉淀析出。滤取沉淀, 用水洗涤, 干燥, 得叶绿酸 e₆ 固体。以硅胶柱液相层析(洗脱液, 丙酮: 甲醇: 甲酸=50: 25: 1, V/V), 得叶绿酸 e₆ 固体 3.52 g。

叶绿酸 e_6 的 HPLC 保留时间、质谱及紫外光谱测定的结果如下:

HPLC 保留时间测定: $R_t=6.465$ 分。

MS m/z : $598(M+H+1)^+$, $597(M+H)^+$, $596(M+H-1)^+$.

UV $\lambda_{\max}(nm)$: 654.5, 601.5, 503.5, 398。

取叶绿酸 e_6 1.4042g 溶于 140ml 丙酮, 加 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.3832g 于 65 $^{\circ}C$ 水浴中搅拌反应 3 小时, 蒸去丙酮, 用水洗涤, 至无游离铁, 真空干燥, 得墨绿色叶绿酸 e_6 合铁 (II) 粉末 1.3539g。

取叶绿酸 e_6 合铁 (II) 粉末 1.0242g, 加入 4%NaOH 使其刚刚完全溶解, 真空干燥, 得叶绿酸 e_6 合铁钠盐 1.0672g。

叶绿酸 e_6 合铁钠盐的质谱、紫外光谱和含铁量测定的结果如下:

UV $\lambda_{\max}(nm)$: 671.5, 603.5, 395.0。

MS m/z : $651(M+H)^+$, $650(M)^+$, $649(M-H)^+$.

含铁量测定: 6.679%。

实施例 3

叶绿酸 e_4 合铁钠盐的制备

取实施例 1 所述方法制得的叶绿酸 e_6 5g 溶于 100ml 吡啶, 在油浴中, 115-125 $^{\circ}C$ 加热回流 1 小时, 减压蒸馏, 蒸去吡啶, 得墨绿色固体叶绿酸 e_4 4.45g。

叶绿酸 e_4 的 HPLC 保留时间、质谱及紫外光谱测定结果如下:

HPLC 保留时间测定: $R_t=6.632$ 分。

MS m/z : $554(M+H+1)^+$, $553(M+H)^+$.

UV $\lambda_{\max}(nm)$: 661.5, 606.0, 528.0, 501.5, 403.5。

取叶绿酸 e_4 0.1826g 溶于 40ml 甲醇中，加入 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 0.1810g，于 70℃ 水浴中反应 2 小时，蒸去甲醇，用水洗涤至无游离铁，真空干燥，得墨绿色叶绿酸 e_4 合铁（II）钠盐粉末 0.1924g。

叶绿酸 e_4 合铁钠盐的质谱、紫外光谱和含铁量测定的结果如下：

UV $\lambda_{max}(nm)$: 671.5, 612.5, 395.5。

MS m/z : $607(M+H)^+$, $606(M)^+$, $605(M-H)^+$, $604(M-H-1)^+$

含铁量测定：2.39%。

实施例 4

叶绿酸 f 合铁（II）钠盐的制备

取实施例 1 所述方法制得的叶绿酸 e_6 5g，溶于 50ml 吡啶，加 25%KOH 甲醇溶液 250ml，在通氧气条件下反应 1 小时，再在通氮气条件下回流 1 小时。冷却后将溶液倒入 1000ml 冷水中，加 18%HCl 调节溶液的 pH 到 3，有沉淀析出。滤取沉淀，用水洗涤，干燥，得叶绿酸 f。以硅胶柱液相层析（洗脱液，丙酮：甲醇：甲酸=50：25：1，V/V）得墨绿色叶绿酸 f 固体 4.15g。

叶绿酸 f 的 HPLC 保留时间、质谱及紫外光谱测定结果如下：

HPLC 保留时间测定： $R_t=8.532$ 分。

MS m/z : $540(M+H+1)^+$, $539(M+H)^+$, $538(M+H-1)^+$ 。

UV $\lambda_{max}(nm)$: 653.5, 599.0, 501.5, 398.5。

取叶绿酸 f 2.0055g 溶于 200ml 甲醇，加入 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 2.0540g，于 70℃ 水浴中搅拌反应 3 小时，蒸去甲醇，用水洗涤至无游离铁，真空干燥，得墨绿色叶绿酸 f 合铁（II）粉末 2.0860g。

取叶绿酸 f 合铁 (II) 粉末 1.1803g, 加入 4%NaOH 使之溶解, 真空干燥, 得叶绿酸 f 合铁 (II) 钠盐 1.2983g。

叶绿酸 f 合铁 (II) 钠盐的质谱、紫外光谱和含铁量测定, 结果如下:

UV $\lambda_{\max}(\text{nm})$: 656.5, 598.0, 394.0。

MS m/z : 591(M+H)⁺, 590(M)⁺, 589(M-H)⁺, 588(M-H-1)⁺

含铁量测定: 3.27%。

实施例 5

脱氢叶绿酸 f 合铁 (II) 钠盐的制备

取实施例方法 3 制得的叶绿酸 f 2g 溶于 100ml 二甲基吡啶中, 180-220℃回流 10 小时, 减压蒸去二甲基吡啶, 得脱氢叶绿酸 f。经硅胶柱液相层析 (洗脱液, 丙酮: 甲醇: 甲酸=50: 15: 1, V/V), 得脱氢叶绿酸 f 1.8g。

脱氢叶绿酸 f 的 HPLC 保留时间, 质谱及紫外光谱测定的结果如下:

HPLC, 保留时间: $R_t=8.232$ 分。

MS m/z : 538(M+H+1)⁺, 537(M+H)⁺, 536(M+H-1)⁺。

UV, $\lambda_{\max}(\text{nm})$: 655.0, 503.5, 354.0。

取脱氢叶绿酸 f 2.6228g, 溶于 300 ml 甲醇中, 加入 FeSO₄ 2.7659g, 于 65℃水浴中搅拌反应 4 小时, 蒸去甲醇, 用水洗涤至无游离铁, 真空干燥, 得墨绿色脱氢叶绿酸 f 合铁 (II) 粉末 2.7602g。

取 2.1043g 脱氢叶绿酸 f 合铁 (II) 粉末, 加入 4%NaOH, 使之刚刚溶解, 真空干燥, 得脱氢叶绿酸 f 合铁 (II) 钠盐 2.2367g。

脱氢叶绿酸 f 合铁钠盐的质谱, 紫外光谱和含铁量测定结果如下:

UV, $\lambda_{\max}(\text{nm})$: 658.0, 341.0。

MS m/z: 589(M+H)⁺,588(M)⁺,587(M-H)⁺

含铁量测定：5.72%。

实施例 6

改善大鼠缺铁性贫血的比较动物试验

1 材料与方法

1.1 样品

样品叶绿酸 f 合铁（II）钠盐（1#）、叶绿酸 e₆ 合铁（II）钠盐(2#)、
脱氢叶绿酸 f 合铁（II）钠盐（3#）

1.2 实验动物

健康 SD 断乳大鼠 50 只，雄性，体重 55-65g，由复旦大学实验动物部
提供，国家实验动物合格证号：SCXK 沪 2002-0002。

1.3 低铁饲料

低铁饲料配方见表 1。

表 1 低铁饲料配方

成分	%	成分	%
葡萄糖（结晶水）	49.48	氯化钠	0.50
鸡蛋蛋白粉	20.00	氯化钾	0.50
脱脐黄玉米粉	15.00	混合微量元素①	0.27
明胶	5.00	氯化胆碱	0.15
玉米油	5.00	混合维生素②	0.10
磷酸二氢钠	2.00		
碳酸钙	2.00		

①混合微量元素（g%）：MgSO₄·H₂O 73.816g ZnSO₄·7H₂O 19.657g

$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 5.733g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.7315g, KIO_3 0.0625g,

②混合维生素(g%):维生素 A (50 万 IU/g) 1.00g, 维生素 D₃ (20 万 IU/g) 0.75g, α -醋酸生育酚(含 25%VE 的明胶) 12.5g, 维生素 K 0.04g, 盐酸硫胺素 0.30g, 核黄素 0.30g, 维生素 B₆ 0.30g, 泛酸钙 0.60g, 尼克酸 3.00g, 叶酸 0.10g, 维生素 B₁₂ (含 0.1%维生素 B₁₂ 的明胶) 2.00g, 蔗糖 79.11g.

1.4 实验步骤

大鼠以低铁饲料和双蒸水喂养, 并采用不锈钢笼及食罐, 避免实验过程中铁污染。自第 3 周开始选取部分大鼠采尾血, 测定血红蛋白含量(Hb), 直至多数动物 Hb 低于 100g/L 以下时, 测定全部大鼠的 Hb 及体重。选取 Hb<100g/L 的贫血大鼠作为实验动物, 根据贫血大鼠 Hb 水平和体重, 随机分为 4 组, 每组 8 只, 分别为低铁对照组、1#样品组、2#样品组和 3#样品组。各组大鼠均继续饲以低铁饲料; 各样品组每天分别灌胃给予 1#、2#、3#样品 1.67mg/b.w. (以元素铁计), 样品溶液以双蒸水制备; 低铁对照组灌胃给予等量双蒸水。实验期为 30 天, 实验期末, 称量大鼠体重, 并采血测定各项血液学指标。

1.5 观察指标

1.5.1 血红蛋白(氰化高铁法)

1.5.2 红细胞内游离原卟啉(荧光分光光度法)

1.5.3 动物体重

1.6 统计处理

采用 SPSS9.0 对实验数据进行统计分析, 包括 ANOVA 和 Dunnett t 检验。

2 实验结果

2.1 样品对缺铁性贫血大鼠血红蛋白含量的影响

由表 2 可见, 实验前各组大鼠间血红蛋白含量无显著性差异($P>0.05$), 实验 30 天后, 低铁对照组大鼠的血红蛋白含量继续下降, 而 1#~3#样品组

大鼠的血红蛋白含量及实验前后血红蛋白差值明显升高，与低铁对照组比较差异有显著性 ($P<0.05$)。

表 2 实验前后大鼠血红蛋白含量 ($X\pm SD$)

组别	动物数 (只)	血红蛋白含量 (g/L)		
		实验前	实验后	差值
低铁对照组	8	71.1 $\pm$ 10.3	61.0 $\pm$ 15.6	-10.1 $\pm$ 8.5
1#样品组	8	65.9 $\pm$ 6.8	81.8 $\pm$ 8.3*	15.9 $\pm$ 7.2*
2#样品组	8	66.9 $\pm$ 7.5	105.0 $\pm$ 11.9*	38.1 $\pm$ 15.6*
3#样品组	8	67.1 $\pm$ 7.6	91.4 $\pm$ 8.7*	24.3 $\pm$ 9.9*

*与低铁对照组比较, $P<0.05$

2.2 样品对缺铁性贫血大鼠红细胞内游离原卟啉含量的影响

由于缺铁，低铁对照组大鼠的红细胞内游离原卟啉含量升高，而 1#样品组、2#样品组和 3#样品组大鼠的红细胞内游离原卟啉的含量，与低铁对照组比，明显降低，差异有显著性 ($P<0.05$)。

表 3 大鼠红细胞内游离原卟啉含量及实验前后体重 ($X\pm SD$)

组别	动物数 (只)	实验前体重 (g)	实验后体重 (g)	FEP (ug/L)
低铁对照组	8	118 $\pm$ 14	161 $\pm$ 10	1020 $\pm$ 274
1#样品组	8	123 $\pm$ 16	187 $\pm$ 23*	701 $\pm$ 145*
2#样品组	8	117 $\pm$ 13	192 $\pm$ 23*	636 $\pm$ 158*
3#样品组	8	114 $\pm$ 19	204 $\pm$ 27*	711 $\pm$ 122*

*与低铁对照组比较, $P<0.05$

2.3 样品对缺铁性贫血大鼠体重的影响

实验前各组大鼠间体重无显著性差异 ($P>0.05$)，实验 30 天后，1#样品组、2#样品组和 3#样品组大鼠的体重明显高于低铁对照组，提示，补充

铁剂减轻了缺铁对大鼠体重增长的不利影响，见表 3。

3 结论

1#、2#、3#样品组大鼠实验后血红蛋白含量与低铁对照组比较，明显升高，差异经统计检验有显著性 ($P < 0.05$)，且实验前后血红蛋白差值平均升高 10g/L 以上，同时红细胞内游离原卟啉含量与低铁对照组比，明显降低 ($P < 0.05$)。按照卫生部“保健食品检验与评价技术规范”中规定的评判标准，可以认为 1#、2#、3#样品改善营养性贫血功能动物实验结果阳性。