



PCT

按照专利合作条约 (PCT) 所公布的国际申请

(51) 国际专利分类号: A61K 31/295	A1	(11) 国际公布号: WO99/11256 (43) 国际公布日: 1999年3月11日(11.03.1999)
(21) 国际申请号: PCT/CN98/00174 (22) 国际申请日: 1998年8月28日(28.08.1998) (30) 优先权: 97116835.0 1997年8月29日(29.08.1997) CN (71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 北京巨能亚太生命科学研究(中心)(BEIJING JUNENG ASIA-PACIFIC LIFE SCIENTIFIC RESEARCH CENTER) [CN/CN]; 中国北京市西城区宣武门西大街甲129号金隅大厦九层, 邮政编码:100031, Beijing (CN). (72) 发明人;及 (75) 发明人/申请人(仅对美国): 于凯(YU, Kai) [CN/CN]; 王志文(WANG, Zhiwen) [CN/CN]; 寇福平(KOU, Fuping) [CN/CN]; 中国北京市西城区宣武门西大街甲129号金隅大厦九层, 邮政编码:100031, Beijing (CN). (74) 代理人: 柳沈知识产权律师事务所(LIU, SHEN & ASSOCIATES); 中国北京市朝阳区北辰东路8号汇宾大厦A0601, 邮政编码:100101, Beijing (CN).	(81) 指定国: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE(+UM), DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO专利(GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI专利(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG) +UM=专利和实用新型 本国际公布: 包括国际检索报告的修正本。 (88) 国际检索报告修正本公布日期: 1999年8月5日(05.08.99)	
(54) Title: L-THREONATE FERROUS, AS WELL AS PHARMACEUTICAL COMPOSITION AND USE FOR IMPROVING AND TREATING HUMAN ANEMIA THEREOF (54) 发明名称: L-苏糖酸亚铁, 其药用组合物以及在改善和治疗人体贫血中的应用 (57) Abstract The present invention provides L-threonate ferrous shown by formula (I), as well as pharmaceutical composition thereof. L-threonate ferrous may be useful to mammal, in particular human body for supplementing iron to improve and treat nutritional, posthemorrhagic anemia and hemolytic blood.		

L - 苏糖酸亚铁、其药用组合物以及
在改善和治疗人体贫血中的应用

发明所属的技术领域

- 5 本发明涉及新的可作为药物应用的 L - 苏糖酸衍生物, 具体地说, 涉及的是 L - 苏糖酸亚铁, 其制备方法及其药用组合物, 以及 L - 苏糖酸亚铁在制备补铁剂药物和改善和治疗贫血, 特别是营养性贫血、失血性贫血和溶血性贫血中的应用。

10 发明的背景技术

L - 苏糖酸是维生素 C 的主要降解产物之一, 维生素 C 的某些功能作用事实上是由其降解产物如 L - 苏糖酸等来具体实现的, 反过来, 这些降解产物的存在又对维生素 C 的生物功能或代谢机理发挥影响。

- 15 L - 苏糖酸钙是 L - 苏糖酸的一种衍生物, 其除了能够促进动物淋巴细胞对维生素 C 的吸收, 还可以作为一种高效的分子型钙营养强化剂用于预防和治疗各种因缺钙引起的疾病; 同时, 还发现 L - 苏糖酸钙在消炎止痛和降血压等方面有着明显的疗效。但是, L - 苏糖酸的其他金属盐衍生物及其作为药物和治疗疾病的应用尚未见报导。

- 20 贫血是一种常见的疾病。造成贫血的原因有很多, 其主要为: (1) 血液中红细胞体积或数量的减少; (2) 血红蛋白减少, 如慢性或急性失血或由于暴露于溶血性化学物质而使红细胞受到破坏; (3) 生成的红细胞的减少, 例如, 由于缺少骨髓或营养性物质如 B₁₂ 和铁而引起的贫血。

- 25 缺铁性贫血 (IDA), 也称作营养性贫血, 是最常见的一种贫血, 其产生的原因是身体铁损失增加而使铁储存量降低, 如生长期、妊娠期或其它慢性失血引起的身体铁损失或由于日常摄取铁量等不足而引起的身体铁的缺乏。

- 30 缺铁性贫血是世界性的营养问题。在患有 IDA 后, 即便是用铁含量较高的强化食物也不能代替药物铁来进行治疗。在各种用来治疗缺铁性贫血的药物中, 硫酸亚铁因疗效高、价格低、药源丰富而列首选, 但其副作用高, 从而使口服铁剂治疗 IDA 受到很大限制, 见中国小儿血液 1996 年第 1 期第 24 - 26 页。因此, 需要提供一种能有效地改善和治疗缺铁性贫血的

化合物及其药物组合物。

另一类常见的贫血为失血性贫血，指由于身体失血，例如妇女月经期或妊娠期失血造成的贫血。

5 另一类贫血为溶血性贫血。造成溶血性贫血的原因主要是由于身体暴露于溶血性化学物质如磺胺、萘等物质，或者由于用药而对细胞产生抗体，或者由于身体存在遗传性缺陷细胞。治疗溶血性贫血的方法主要是从身体除去上述溶血性物质等。因此，需要提供一种改善和治疗溶血性贫血的化合物及其药物组合物。特别是需要一种能同时改善和治疗营养性贫血、失血性贫血和溶血性贫血的化合物及其药物组合物。

10 发明目的

本发明的目的是提供一种新的 L - 苏糖酸亚铁，特别是 L - 苏糖酸亚铁。

本发明另一目的是提供一种改善和治疗贫血如缺铁性贫血、失血性贫血和溶血性贫血的药物组合物。

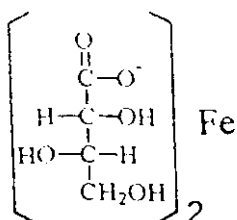
15 进一步的目的是提供一种改善和治疗这类贫血的方法。

发明的有益效果

20 本发明的 L - 苏糖酸亚铁与已知的铁制剂如硫酸亚铁相比具有高效吸收特点，在动物机体状态与摄入铁量相同时，L - 苏糖酸亚铁消化吸收率比硫酸亚铁消化吸收率高，并且安全无毒。本发明 L - 苏糖酸亚铁作为铁制剂具有高效吸收特点和缓释功能对改善和治疗溶血性贫血、失血性贫血及缺铁性贫血、低血色素等疾病具有明显药效作用，并且明显优于葡萄糖酸亚铁和富马酸亚铁，因此可以用作改善和治疗贫血的药物和补铁剂。

25 发明详述

本发明提供了结构如下式 (I) 的 L - 苏糖酸亚铁及其水合物：



30 本发明的 L - 苏糖酸亚铁具有左旋光学活性结构，易溶于水，在溶液

中主要以络合结构形式存在，稳定性较高。

本发明的 L - 苏糖酸亚铁的制备方法是：

- 1、通过 L - 苏糖酸和二价铁的氧化物如一氧化铁，或氢氧化物如氢氧化亚铁进行中和反应得到；
- 5 2、由 L - 苏糖酸或 L - 苏糖酸钙和二价铁的无机盐如硫酸亚铁、氯化亚铁、硝酸亚铁进行复分解反应得到，其中 L - 苏糖酸可以以维生素 C 为原料获得，也可以 L - 苏糖酸钙为原料直接由弱酸置换出其中的钙得到。

上述二价铁的无机盐、氧化物或氢氧化物可以由三价铁的无机盐如硝酸铁、三硫酸二铁，氧化物如氧化铁或氢氧化物如氢氧化铁或其它物质如四氧化三铁得到。

根据本发明的制备 L - 苏糖酸亚铁的方法，其包括：

- (1) 在 pH 为 6 - 10，优选 7 - 9 下，用氧化剂如过氧化氢水溶液对维生素 C 进行氧化，得到 L - 苏糖酸溶液；
- 15 (2) 在氮气气氛下，使上述 L - 苏糖酸溶液与亚铁的氧化物、氢氧化物或盐，得到 L - 苏糖酸亚铁。

在上述的方法中，也可由市购的 L - 苏糖酸与亚铁的氧化物、氢氧化物或盐反应，生成 L - 苏糖酸亚铁。

本发明还涉及一种包含 L - 苏糖酸亚铁作为活性成分的药物组合物。

- 20 本发明的 L - 苏糖酸亚铁的组合物中，可以包括其它活性物质和任何一种药物可接受的载体，药用辅料如香味剂、赋形剂、维生素等药物添加剂。优选，本发明中的 L - 苏糖酸亚铁组合物包括 L - 苏糖酸亚铁、维生素 C 或 B₁₂，其中 L - 苏糖酸亚铁为组合物重量的约 10 % - 90 %，优选约 30 - 80 %，更优选 40 - 60 % 如 50 %。

- 25 “药物上可接受的”指那些从药理学观点来说对患者是可接受性质和/或物质，而且对于制造药物的药剂师来说，组合物、制剂、稳定性、生物利用度是可接受的。

- 30 本发明的 L - 苏糖酸亚铁可以制成任何一种药物剂型。合适的剂型包括例如片剂、胶囊剂、栓剂、溶液剂、悬浮剂、糖浆、乳剂、凝胶剂、软膏剂、冻干粉剂、滴丸剂、膜剂、脂质体、可分散的粉剂或注射用溶液。优选采用固体剂量形式如片剂。

根据本发明，可以将活性物质 L - 苏糖酸亚铁与已知的赋形剂例如惰性稀释剂如碳酸钙、磷酸钙和乳糖，崩解剂如玉米淀粉，粘结剂如淀粉或明胶，润滑剂如硬脂酸镁或滑石，以及可产生缓释作用的物质如羧基聚亚甲基、羧甲基纤维素等混合而制备片剂。

- 5 糖衣片剂可按类似的方法生产采用通常用于糖衣片的物质如虫胶、阿拉伯胶、滑石、二氧化钛和糖包覆按上述片剂相同方式制成的剂芯。为了避免不相容性，剂芯也可包括多层。

注射用溶液可用通用的方式生产，例如添加防腐剂如对羟基苯甲酸酯或稳定剂如乙二胺四乙酸的碱金属盐，然后移至注射瓶中。

- 10 本发明的其它形成的药物组合物如栓剂乳剂等可采用现有技术的已知的方法制备。

根据本发明，L - 苏糖酸亚铁还可以以食品添加剂、饮料添加剂和调味品添加剂的形式使用，如加入到面包中，通过日常饮食摄食，达到补铁从而改善和治疗贫血的目的。

- 15 根据本发明，提供了一种采用 L - 苏糖酸亚铁改善和治疗贫血如营养性贫血、失血性贫血和溶血性贫血的方法。

根据本发明改善和治疗贫血的方法，其包括给上述对象服用一定量的 L - 苏糖酸亚铁。

- 20 本发明所述改善和治疗贫血方法，可以适用动物，如哺乳动物如牛、马、羊，特别适于改善和治疗人体的贫血，如儿童、妇女或老年人。特别是贫血发病率较高的人群如儿童、妇女。

L - 苏糖酸亚铁(I)可按口服、非肠道给药如注射或局部途径给均具有活性。

- 25 根据本发明的方法，所需的治疗剂量根据病情及所采用的给药方式而定。给药的精确量还可以随具体情况而变化，如贫血的程度、患者的年龄、体重等，例如对于儿童，其用量应当酌减。

- 30 对于片剂和其它固体药物形式，L - 苏糖酸亚铁的用量，一般为 10mg - 1g/天/成人，优选 20mg - 800mg/天/成人，优选为 30 - 500 mg/天/成人如 30mg、250 mg 或 400 mg，更优选为 50-200 mg/天/成人如 60 mg、100 mg、150 mg。

本发明的治疗动物，特别是除人以外的哺乳动物的贫血的方法中所用

的 L - 苏糖酸亚铁的量, 依据不同的动物, 可以通过实验来确定。

本发明的改善治疗贫血的方法可以治疗缺铁性贫血和失血性贫血, 例如生长期、妊娠期、月经期或其它慢性失血引起的身体铁损失或由于日常摄取铁量不足而引起的身体铁的缺乏而产生的贫血。

5 本发明的治疗贫血的方法可以治疗溶血性的贫血, 如由于暴露于溶血性化学物质使红细胞受到破坏而造成血红蛋白减少引起的贫血。

本发明还涉及 L - 苏糖酸亚铁在治疗缺铁造成的系统功能紊乱等疾病中用作辅助药物。

本发明按食品安全毒理学评价程序, 采用 GB15193.4 - 94 霍恩氏法对
10 L - 苏糖酸亚铁的毒性进行了评价, 大鼠 LD50 为: 雌鼠 3.16g/kg, 雄鼠 3.69g/kg; 这表明 L - 苏糖酸亚铁属于实际无毒。

本发明按照 GB15193.4 - 94、GB15193.5 - 94、GB15198.4 - 94、GB15193.14 - 94 分别进行了 Ames 试验、骨髓微核试验、小鼠睾丸染色体畸变试验, 表明 L - 苏糖酸亚铁经 Ames 试验、骨髓微核试验、小鼠睾丸染色体畸变试验结果均为阴性反应, 大鼠口服 L - 苏糖酸亚铁未见有胚胎毒性和致畸作用。
15

本发明利用雄鼠对 L - 苏糖酸亚铁消化吸收进行了研究。具体内容见实验一。

本发明还对 L - 苏糖酸亚铁对溶血性贫血大鼠、营养性贫血大鼠和失
20 血性贫血大鼠药效进行了研究。具体内容见实验二。

本发明还对 L - 苏糖酸亚铁改善营养性贫血进行了临床研究。具体内容见实验三

实验一、L - 苏糖酸亚铁消化吸收的研究

25 在本实验中采用北京巨能生命科学研究中心提供的 L - 苏糖酸亚铁, 分子式: $\text{Fe}(\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_5)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 分子量: 362, 含铁 15.47%, 易溶于水, 黄绿色粉末, 无异味。实验动物选用黑龙江省肿瘤研究所实验动物中心提供的健康雄性 Wistar 大鼠, 体重 140 - 180g。

一、试验方法:

30 (1) 样品试验剂量与动物分组: 动物随机分 5 组, 每组 10 只, 各组动物在喂低铁饲料(含铁 0.9mg/kg)的基础上, 按下列设计的剂量灌胃。

高剂量组: Fe, 5mg/kg, L - 苏糖酸亚铁 32.32mg/kg;

中剂量组: Fe, 2.5mg/kg, L - 苏糖酸亚铁 16.16mg/kg;

低剂量组: Fe, 1.0mg/kg, L - 苏糖酸亚铁 6.46mg/kg;

硫酸亚铁(阳性对照)组: Fe, 2.5mg/kg, 硫酸亚铁 12.43mg/kg;

阴性对照(低铁饲料)组: Fe, 0.9mg/kg(实测饲料中含铁量)

(2) 试验步骤: 首先将动物在实验室适应环境一周, 喂饲普通饲料。然后改喂按 AOAC 配方配制的低铁合成饲料(含 Fe 0.9mg/kg)至两周时, 再将各组动物在继续喂低铁饲料的基础上, 按上述分组剂量, 采用灌胃方式给予动物样品, 阳性对照组给予硫酸亚铁, 阴性对照组给予等量的 3% 淀粉悬液灌胃。纪录各组动物的给食量和撒食量, 自由饮用去离子水。如此进行 3 日代谢试验, 收集 3 日粪便, 80 - 90 °C 烘干、称重、粉碎过 40 - 60 目, 取 0.5 - 0.6g, 用 4: 1 的硝酸: 高氯酸消化至终点, 定容 10ml, 利用原子吸收法测定铁含量。然后按下列公式计算每只动物及各组动物平均对铁的消化吸收率(%):

$$\text{消化吸收率}(\%) = \frac{\text{摄入铁量} - \text{粪铁量}}{\text{摄入铁量}} \times 100$$

二、试验结果:

1. 将各组动物 3 日代谢试验消化吸收率测定结果于表 1 所示:

表 1、消化吸收率

组别	动物数(只)	铁剂量, mg/kg	消化吸收率(%)
高剂量组	10	5	42.60 ± 1.79 ^a
中剂量组	10	2.5	54.90 ± 4.08 ^b
低剂量组	10	1	59.10 ± 5.01 ^b
硫酸亚铁(阳性对照)组	10	2.5	42.00 ± 1.02 ^a
阴性对照(低铁饲料)组	10	0.9	55.50 ± 1.85 ^b

上述结果表明 L - 苏糖酸亚铁消化吸收率比硫酸亚铁消化吸收率高, 差异极显著(P < 0.01), 动物对 L - 苏糖酸亚铁比硫酸亚铁更容易消化吸收。

实验二 L - 苏糖酸亚铁对溶血性贫血大鼠、缺铁性贫血大鼠和失血性

贫血大鼠药效实验研究

1. 药物 L - 苏糖酸亚铁同实验一; 葡萄糖酸亚铁有效成分: 含铁量 11 %, 黄绿色粉剂, 易溶于水, 常温下密封保存, 江西赣江制药有限公司提供; 富马酸亚铁含铁量 6.4%, 上海第十八制药厂提供。按实验给药剂量将上述药物用蒸馏水稀释。

2. 实验动物与分组

(1) 溶血性贫血动物模型制作及方法:

Wistar 大鼠, 雄性, 体重 $250 \pm 10\text{g}$, 由北京医科大学动物中心提供。动物正常饮水饮食, 饲料购自北京医科大学动物中心。

- 10 采用皮下注射乙酰苯肼 (Acetylphenylhydrazine ; $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}$) 方法制作溶血性贫血动物模型。乙酰苯肼购自北京市生化试剂公司, 由北京福星化工厂生产。用药剂量: 于实验前各大鼠皮下注射 4 % 乙酰苯肼生理盐水溶液 $57 \mu\text{g/g}$, 于注射后 2、4 天查血液中血色素含量, 至外周血血色素降至 $6.11 \pm 0.25\text{g} \%$ 时, 将贫血模型动物按实验目的分为高剂量组、中剂量组、低剂量组, 已知药对照组, 模型动物对照组及正常动物对照组, 每组 15 18 只大鼠。

(2) 缺铁性贫血动物模型制作及分组:

- 20 Wistar 大鼠 80 只, 雄性, 体重 $43 \pm 2.5\text{g}$, 由北京医科大学动物中心提供, 按实验设计随机分为 8 组, 其中缺铁性贫血模型动物 6 组, 正常对照动物 2 组, 每组 10 只, 按缺铁性贫血动物模型进行饲养。按 AOAC 标准自制低铁饲料, 饲料含铁量 8.0mg/kg , 6 组动物用低铁饲料和离子水进行喂养 4 周, 制作大鼠缺铁性贫血动物模型, 2 组正常对照动物喂养正常大鼠饲料。饲料购自北京医科大学动物中心。

- 25 8 组动物每 7 天测血红蛋白一次, 至喂养 4 周后, 其缺铁性贫血动物组血色素降至 $7.51 \pm 0.17\text{g}$ 时, 各取一组模型动物及一组正常对照动物, 每组 10 只, 取血进行实验观察指标测定, 作为服药前动物观察指标对照。其余 5 组缺铁模型动物和 1 组正常对照组进行 L - 苏糖酸亚铁治疗大鼠缺铁性贫血实验。两种模型动物饲养于室内温度 23°C , 平均湿度 60 %, 光照时间 10 小时动物饲养室。

30 (3) 失血性贫血模型的制作

3. 失血性贫血动物模型制作及分组

Wistar 大鼠 120 只, 雄性, 体重 $130 \pm 8.2\text{g}$, 由北京医科大学实验动

物中心提供。按实验设计, 随机分为 8 组, 其中失血性贫血模型动物 7 组, 正常对照组动物 1 组, 每组 15 只, 失血性贫血组动物采用毛细玻璃管右眼眶内眦放血方法, 第一次失血量 2.0ml/只, 失血后平均血色素降至 9.78-10.65g%, 间隔两天, 第二次失血 2ml/只, 失血后平均血色素降至 7.40-7.88g%, 两次失血总量为 4.0ml/只, 占有效循环血量(9%体重)的 32.9%左右。于失血性贫血模型制作后, 处死模型动物和正常对照组各一组, 每组 10 只, 取血进行实验观察指标测定, 作为给药前动物观察指标对照。其余 6 组动物按实验设计随机分为 L-苏糖酸亚铁高剂量组、中剂量组、低剂量组, 已知药葡萄糖酸亚铁组, 富马酸亚铁组和模型对照组, 每组 15 只大鼠。于给药后 12 天, 各实验组处死 5 只大鼠, 于给药后 18 天各组处死 10 只大鼠, 进行各项指标测定。实验期间每 6 天监测血色素含量变化。

3. 服药剂量及方法

各组大鼠实际服亚铁量为: 高剂量组 17.28mgFe/kg; 中剂量组 8.64mg Fe/kg; 低剂量组 4.32mg Fe/kg; 阳性药组 8.64mg Fe/kg。缺铁性贫血各组动物于服药其间继续低铁饲料和去离子水饲料, 正常动物对照组用正常饲料和自来水饲料。

4. 给药后各组大鼠观察时间点设置: 于制作贫血模型前, 贫血模型即刻, 服药后一周, 二周, 三周, 分别检测贫血有关指标, 并观察服药期间模型大鼠贫血恢复情况及死亡情况。血清铁蛋白放免试剂药盒, 购自北方同位素试剂公司。

下面是 L-苏糖酸亚铁对溶血性贫血大鼠药效实验结果

1. 溶血性贫血大鼠服药二周, 外周血血红蛋白, 红细胞计数及网织红细胞计数变化观察, 见表 2-4。

表 2、各组贫血大鼠给药二周后, 血红蛋白含量变化比较(g %)

组别	贫血前	贫血后	服药 1 周	服药 2 周
高剂量组	14.9 ± 0.422	6.18 ± 0.419	11.95 ± 0.844	14.34 ± 0.420
中剂量组	15.01 ± 0.421	5.87 ± 0.590	11.11 ± 0.633	14.04 ± 0.383
低剂量组	14.89 ± 0.501	5.94 ± 0.526	9.95 ± 0.488	12.57 ± 0.590
葡萄糖酸亚铁	15.34	6.57	10.62	12.65

	± 1.176	± 0.272	± 0.591	± 0.530
模型对照组	15.03	6.01	8.14	10.79
	± 0.352	± 0.503	± 0.530	± 0.364
正常对照组	14.60	14.23	14.33	14.21
	± 0.302	± 0.434	± 0.526	± 0.354

表 3、各组贫血大鼠服药后，二周血液红细胞计数比较 ($\times 10^{12}/L$)

组别	贫血前	贫血后	服药 2 周
高剂量组	7.185	2.310	5.663
	± 0.292	$\pm 0.248^*$	$\pm 0.236^*$
中剂量组	7.238	2.163	5.376
	± 0.181	$\pm 0.422^*$	$\pm 0.273^*$
低剂量组	8.290	3.370	4.863
	± 0.188	$\pm 0.193^*$	$\pm 0.136^*$
葡萄糖酸亚铁	7.215	2.188	5.011
	± 0.213	$\pm 0.201^*$	$\pm 0.337^*$
模型对照组	8.180	3.323	3.647
	± 0.277	± 0.384	± 0.293
正常对照组	7.160	7.132	7.202
	± 0.251	± 0.324	± 0.336

表 4、 各组贫血大鼠服药后二周血液网织红细胞计数比较 %

组别	计数细胞	贫血前	贫血后	服药 2 周
高剂量组	1000	1.193	94.80	6.11
		± 0.093	± 1.183	± 1.375
中剂量组	1000	1.138	95.35	7.60
		± 0.198	± 2.026	± 0.551
低剂量组	1000	1.298	95.475	9.35
		± 0.147	± 1.575	± 1.089
葡萄糖酸亚铁	1000	1.448	96.00	9.12
		± 0.139	± 2.174	± 0.966
模型对照组	1000	1.135	97.85	19.21
		± 0.256	± 1.790	± 3.063

正常对照组	1000	1.602	1.734	1.932
		± 0.154	± 0.253	± 0.387

从表 2 - 4 可见, 给药 2 周后, 各补铁组, 外周血血红蛋白、红细胞计数均较服药前明显升高, 网织红细胞计数百分率明显降低, 其 L - 苏糖酸亚铁高、中剂量组均值接近正常对照组前水平。而空白对照组各值虽有自然缓慢恢复迹象, 但与服药组相比, 恢复较慢。对于相同的亚铁含量, L - 苏糖酸亚铁组的效果明显好于葡萄糖酸亚铁组。

2. 溶血性贫血鼠服药 2 周, 全血铁含量及血清铁蛋白含量变化观察, 见表 5。

表 5、各组贫血大鼠给药 2 周后, 全血铁及血清铁蛋白含量比较

组别	全血铁含量 $\mu\text{g/ml}$	血清铁蛋白 mg/ml
贫血前	361.89 ± 20.841	157.36 ± 12.906
贫血后	178.81 ± 14.849	63.48 ± 10.704
高剂量	326.95 ± 26.956	160.30 ± 11.620
中剂量	301.89 ± 19.500	156.92 ± 16.641
低剂量	283.53 ± 23.051	129.17 ± 10.479
葡萄糖酸亚铁组	286.04 ± 26.797	134.28 ± 18.872
模型对照组	198.11 ± 17.122	91.33 ± 6.322
正常对照组	333.11 ± 17.35	156.51 ± 12.10

从表 5 可见: 大鼠贫血模型制作后, 服用 L - 苏糖酸亚铁后二周, 全血铁含量及血清铁蛋白含量均有明显升高, 与对照组上述两项均值相比, 统计学差异显著, $P < 0.01$, 其中以服用 L - 苏糖酸亚铁高剂量组和中剂量组含量变化最为显著, 明显好于阳性药组。

下面是 L - 苏糖酸亚铁对营养不良性贫血大鼠药效观察

1. 大鼠血红蛋白 (Hb) 耗竭试验 (大鼠缺铁性贫血模型制作)

试验共进行 28 天, 各组大鼠血红蛋白变化见表 6 - 7。

表 6 各组大鼠 Hb 耗竭试验结果 $n = 10 (\text{g} \%)$

组别	7 天	14 天	21 天	28 天
低铁饲料高剂量组	11.19 ± 0.41	10.28 ± 0.48	9.03 ± 0.75	7.82 ± 0.37
低铁饲料中剂量组	11.33 ± 0.38	10.14 ± 0.57	9.06 ± 0.83	7.51 ± 0.57
低铁饲料低剂量组	11.18 ± 0.41	10.82 ± 0.35	8.45 ± 0.53	7.36 ± 0.58
低铁饲料已知药组	10.87 ± 0.45	10.44 ± 0.48	8.64 ± 0.39	7.34 ± 0.46

低铁饲料对照组	11.35±0.60	10.08±0.69	8.74±0.73	7.53±0.60
正常饲料对照组	11.60±0.46	12.30±0.42	12.85±0.57	13.76±0.30

表 7 大鼠 Hb 耗竭试验 28 天, 正常饲料组和
低铁饲料组血液红细胞计数(RBC)网织红细胞
计数, 全血铁离子含量及血清铁蛋白测定结果 $n = 10$

组别	RBC ($\times 10^{12}/L$)	网织红细胞 (%)	全血铁含量 ($\mu g/ml$)	血清铁蛋白 (ng/ml)
正常饲料组	6.564 ± 0.46	3.41 ± 0.32	313.11 ± 7.35	156.51 ± 12.10
低铁饲料组	2.82 ± 0.41	11.96 ± 0.88	168.63 ± 23.21	79.90 ± 10.72

2. 缺铁性贫血服药三周后外周血血色素, 红细胞计数, 网织红细胞计数, 全血铁蛋白含量及血清蛋白含量变化观察, 见表 8 - 9。

表 8、各组大鼠服药三周, 血色素含量变化比较 $n = 10$ (g %)

组别	服药 7 天	服药 14 天	服药 21 天
正常对照组	13.70 ± 0.32 ^{**}	13.84 ± 0.22 ^{**}	13.98 ± 0.39 ^{**}
缺铁贫血对照组	7.92 ± 0.61	7.77 ± 0.44	8.31 ± 0.51
缺铁贫血高剂量组	10.52 ± 0.49 [*]	12.23 ± 0.45 ^{**}	13.67 ± 0.41 ^{**}
缺铁贫血中剂量组	10.12 ± 0.66 [*]	11.46 ± 0.36 [*]	12.98 ± 0.38 ^{**}
缺铁贫血低剂量组	8.74 ± 0.44	10.76 ± 0.37 [*]	11.87 ± 0.50 ^{**}
缺铁贫血已知药组	9.08 ± 0.65	11.66 ± 0.54 [*]	12.40 ± 0.58 ^{**}

^{*}P < 0.05

^{**}P < 0.01

表 9、各组大鼠服药 21 天后, 血液红细胞计数, 网织红细胞计数,
全血铁量和血清蛋白含量变化比较 $n = 10$

组别	RBC ($\times 10^{12}/L$)	网织细胞 (%)	全血铁含量 ($\mu g/ml$)	血清铁蛋白 (ng/ml)
正常对照组	7.197±0.28	2.30±0.35	308.54±17.38	161.62±7.04
缺铁贫血对照组	3.273±0.23	12.30±0.87	200.31±28.78	74.35±9.93
缺铁贫血高剂量组	6.564±0.65	2.29±0.54	304.37±14.12	156.00±9.99
缺铁贫血中剂量组	6.116±0.21	2.63±0.76	302.02±18.92	139.23±10.22

缺铁贫血低剂量组	5.957±0.44	4.18±1.12	290.78±20.13	119.84±8.96
缺铁贫血已知药组	6.286±0.36	2.36±0.79	297.50±14.83	135.91±14.01

由表 8 可见: 服 L - 苏糖酸亚铁各剂量组从服药 7 天后缺铁性贫血大鼠血色素开始恢复; 服药后 21 天血色素均已达到或接近正常饲料对照组血色素水平, $P < 0.01$, 并优于已知药组。

由表 9 还可见: 服药 21 天后, 各组血液红细胞计数, 全血铁含量及血清铁蛋白含量均值较缺铁性贫血对照组有明显升高, 而血液网织红细胞则较缺铁性贫血对照组降低; 并且对于相同的亚铁含量, L - 苏糖酸亚铁优于已知的药物, 表明 L - 苏糖酸亚铁对缺铁性贫血大鼠具有改善和治疗作用。

3、失血性贫血大鼠, 给药 18 天外周血血色素、红细胞数、网织红细胞数、血清铁蛋白含量及血清铁含量变化观察, 见表 10 - 12。

10

表 10 各组失血性贫血大鼠给药前后血色 (g%) 变化比较 n = 10

组别	给药前	给药 6 天	给药 12 天	给药 18 天
L-苏糖酸亚铁高剂量组	7.88±0.28	8.70±0.43	11.01±0.34	12.40±0.63
L-苏糖酸亚铁中剂量组	7.40±0.54	8.35±0.21	10.67±0.37	12.14±0.27
L-苏糖酸亚铁低剂量组	7.61±0.53	8.00±0.42	10.20±0.49	11.26±0.79
葡萄糖酸亚铁组	7.50±0.76	7.95±0.30	10.50±0.61	11.80±0.63
富马酸亚铁组	7.43±0.85	7.80±0.24	10.12±0.52	11.84±0.45
模型对照组	7.51±0.63	7.42±0.26	9.03±0.56	10.39±0.46

5

表 11 各组失血性贫血大鼠给药后, 外周血红细胞和网织红细胞变化比较

10

15

n=10

组别	红细胞数 $10^{12}/L$		网织红细胞数 (%)	
	给药 12 天	给药 18 天	给药 12 天	给药 18 天
失血贫血高剂量组	5.67±0.313	5.84±0.199	10.04±0.97	7.84±0.871
失血贫血中剂量组	4.810±0.178	5.21±0.194	12.58±1.54	8.44±0.753
失血贫血低剂量组	4.242±0.128	4.76±0.228	13.12±1.84	8.91±1.277
葡萄糖酸亚铁组	4.488±0.271	5.14±0.342	12.66±2.04	9.04±0.793
富马酸亚铁组	4.200±0.153	4.94±0.264	13.80±1.37	9.99±0.879

15

模型对照组	4.046±0.147	4.37±0.310	16.50±1.47	11.58±1.108
-------	-------------	------------	------------	-------------

表 13 各组失血性贫血大鼠给药后,血清铁含量和铁蛋白含量变化比较

n=10

组别	血清铁含量 $\mu\text{g/ml}$		血清铁蛋白含量 ng/ml	
	给药 12 天	给药 18 天	给药 12 天	给药 18 天
失血贫血高剂量组	5.567±0.490	8.973±0.952	92.100±2.071	160.792±5.162
失血贫血中剂量组	5.304±0.594	8.879±0.890	82.392±1.432	152.765±4.556
失血贫血低剂量组	4.508±0.235	6.384±1.188	72.642±4.978	124.643±7.734
葡萄糖酸亚铁组	5.450±0.376	7.027±0.799	80.792±0.722	148.840±8.860
富马酸亚铁组	4.583±0.794	6.446±0.745	76.412±4.725	131.157±6.525
模型对照组	3.358±0.286	5.077±0.937	54.182±2.903	92.445±9.424

- 5 从表 10 - 12 可以看到,在亚铁含量相同的情况下, L - 苏糖酸亚铁比葡萄糖酸亚铁和富马酸亚铁组对于治疗贫血具有更佳的药效作用。

实验三、L - 苏糖酸铁改善营养性贫血功能的临床的研究

- 10 L - 苏糖酸铁,由北京巨能公司提供。该产品为白色片剂,无异味。其主要营养成分为铁元素 7.5mg/片和维生素 C30mg/片。

研究对象:中国哈尔滨市 8 - 13 岁学龄儿童。

测试方法:实验前和实验后对营养性贫血患儿,采耳血 10 μl ,臂静脉血 5ml (3ml 不抗凝, 2ml 抗凝),并测下列各项指标。

- 15 ①红细胞计数:吸 10 μl 全血,加入 2ml 稀释液中,立即震荡,充分混匀,用环棒沾取红细胞悬液一滴,充入计数池内,将计数板平放在显微镜的载物台上,低倍镜下计数。

②血红蛋白(Hb)测定:采用氰化高铁血红蛋白法。取 10 μl 耳血,加

入 5ml 酸化稀释液中，充分混匀，以 SH 血红蛋白仪测定。高铁氰化血红蛋白标准由上海市医学化验所提供，SH 血红蛋白仪由江苏湖光仪器厂生产。

③红细胞内游离原卟啉 (FEP) 测定：取肝素抗凝全血 0.05ml 加入 3.5ml 酸化无水乙醇中，振荡 2 - 3 分钟，以 3000r/min 离心，以上清液于 930 5 荧光光度计进行荧光度测定 (激发滤片 400nm，发射滤片 600nm)，按下列公式计算 FEP。

$$\text{FEP} (\mu\text{g} / \text{L RBC}) = 35 \times \frac{\text{Fu}}{\text{PCV}}$$

10 注：式中 Fu 为荧光度

PCV 为红细胞压积

④血清铁蛋白 (SF) 测定：采用放射免疫竞争抑制法，SF 试剂盒由天津九鼎生物工程有限公司提供。取 2ml 全血离心，取上清，按试剂盒要求程 5 序加样，以 SN - 682 放射免疫 γ 计数器测定。仪器由中科院上海医学原子核研究所日环仪器厂生产。

15 工作步骤

①筛选：以 WHO：INACG (国际营养性贫血咨询组) 1977 的建议标准和 10 全国小儿营养性贫血防治研究协作建议诊断标准为依据，其标准为 Hb < 120g/L；FEP > 500ug/L；SF < 16ug/L；RBC < 400 万/mm³，结合临床症状 20 及体征。鉴别诊断为：溶血性贫血，再生障碍性贫血，慢性失血性贫血，白血病， β 地中海贫血，大细胞性贫血等。从男生 300 人和女生 274 人，分别筛选出 39 名和 22 名营养性贫血患儿 (Hb < 120g/L)。

②干预试验：营养性贫血患儿的主要症状体征为：不爱活动，注意力 15 不集中，淡漠，易睡，食欲低下，以及皮肤粘膜苍白等。从 61 名患儿中随机选取 2 - 6 年级贫血患儿 30 名做观察组，同时，在另外一所条件相似的小学 (贫血检出率为 11.2 %) 选取 30 名贫血患儿做为对照组。对实验组 (30 25 名) 和对照组 (30 名) 进行干预试验，观察期限为 30 天。试验期间对儿童生活、膳食不加任何干预。

③实验组每人每天以温开水口服 2 片上述 L - 苏糖酸亚铁。对照组每 30 人每天服用外型相似的糖片安慰剂 2 片，经实测每片含铁 0.03mg，Vit C 0mg。

补铁的实验结果：见表 13 - 14。

表 13、补铁前后实验组与对照组 Hb、FEP 的变化情况

组别	补铁前 (X ± SD)		补铁后 (X ± SD)	
	Hb (g/L)	FEP (μ g/L)	Hb (g/L)	FEP (μ g/L)
实验组	104.8 ± 6.1	669.1 ± 72.0	120.4 ± 11.2	445.1 ± 80.9
对照组	102.8 ± 6.7	754.5 ± 76.4	103.6 ± 9.1	748.9 ± 85.5

表 14、补铁前后实验组与对照组 SF、RBC 的变化情况

组别	补铁前 (X ± SD)		补铁后 (X ± SD)	
	SF (μ g/L)	RBC (万/mm ³)	SF (μ g/L)	RBC (万/mm ³)
实验组	12.45 ± 1.50	387 ± 6.67	17.01 ± 1.99	410.5 ± 12.4
对照组	12.0 ± 0.9	377 ± 9.7	12.7 ± 1.5	380 ± 8.8

经均数 t 检验表明，实验组各项指标补铁前后的变化均达到了极显著差异 (P<0.01)，而对照组则未见显著性差异 (P>0.05)；补铁前，实验组与对照组的各项指标之间没有显著性差异 (P>0.05)，而补铁 30 天后，两组之间各项指标均达到了极显著性差异 (P<0.01)。

保健功效的判定

①显效：临床症状体征消失或显著好转，Hb 达到正常标准 (Hb > 120g/L)，提高 10g/L，其它生化指标有改善。

②有效：临床症状体征有改善，血红蛋白 Hb 增加 5g/L 以上，其它生化指标无不良改变。

③无效：未达到上列“有效”标准者。

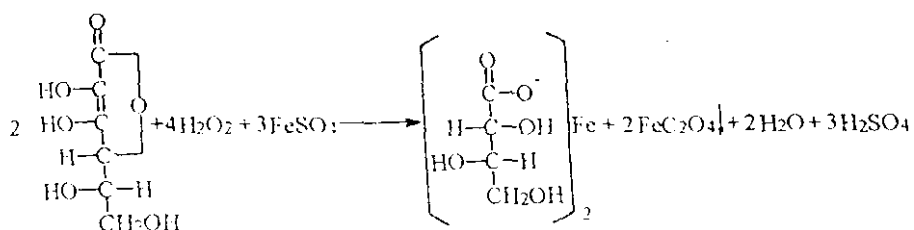
表 15、补铁的保健功效

组别	显效 例数 (%)	有效 例数 (%)	无效 例数 (%)	合计 例数 (%)
实验组	17 (56.7 %)	7 (23.3 %)	6 (20 %)	30 (100.0 %)
对照组	0	0	30 (100 %)	30 (100.0 %)

从表 15 可看出，L-苏糖酸铁纠正营养性贫血的显效率为 56.7%，有效率为 23.3%，累计有效率为 80%。

下面用实施例对本发明进行说明。

实施例一、L - 苏糖酸亚铁的制备



将 0.1mol 维生素 C 溶解于 500ml 二次蒸馏水中，以 0.1mol/L 的 NaOH 调节溶液酸度为弱碱性 (pH = 7 - 9)，向溶液中滴加 30 % 的过氧化氢水溶液 40ml (0.35mol)，充分搅拌并在 10 °C 的温度下维持反应 20h。向体系中加入活性炭并将体系温度升高至 80 °C 以彻底除去过量的过氧化氢，将溶液过滤，当滤液冷却至室温后，在氮气气氛下缓慢加入 0.15mol 硫酸亚铁 (FeSO₄ · 2H₂O)。待全部硫酸亚铁加完并溶解后，维持搅拌 2 小时，过滤，将滤液进行减压浓缩，浓缩液在静置中便析出淡绿色晶体。将它在二次蒸馏水中进行两次重结晶，于室温下真空干燥器中干燥，得到产物含两个结晶水的 L - 苏糖酸亚铁，C₈H₁₄O₁₀Fe · 2H₂O，元素分析结果 (%)：计算值，C26.52，H5.01，Fe15.42；实验值 C26.66，H4.91，Fe15.23。当在 60 °C 温度下真空干燥后 (10mmHg) 得到含一个结晶水的 L - 苏糖酸亚铁 C₈H₁₄O₁₀Fe · H₂O，元素分析结果 (%)：计算值，C27.91，H4.69，Fe16.23；实验值 C 27.66，H 4.94，Fe16.53。当在 120 °C 温度下真空干燥后 (5mmHg) 得到无结晶水的 L - 苏糖酸亚铁 C₈H₁₄O₁₀Fe，元素分析结果 (%)：计算值，C29.45，H 4.33，Fe 17.13；实验值 C 29.11，H 4.39，Fe 17.60。

实施例二、L - 苏糖酸亚铁片剂的制备

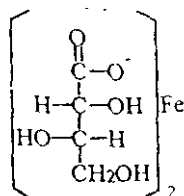
处方：

L - 苏糖酸亚铁	48.5g
维生素 C	30g
甘露醇	180g
淀粉	80g
香精	适量
硬脂酸镁	适量

经制粒、干燥、压片制成 1000 片 L - 苏糖酸亚铁片剂。

权利要求书

1. 下式 (I) L - 苏糖酸亚铁及其水合物:



2. 一种用于改善和治疗贫血的药物组合物, 其含有有效量的 L - 苏糖
10 酸亚铁和药物上可接受的载体。

3. 权利要求 2 的药物组合物, 其中 L- 苏糖酸亚铁量为组合物重量的约 10 % - 90 %, 优选约 30 - 80 %, 更优选 40 - 60 % 如 50 %。

4. 权利要求 2 或 3 的组合物, 其中还包括维生素 C 或 B₁₂。

5. 一种改善人体贫血功能、预防和治疗营养性贫血、失血性贫血和/或溶血性贫血的方法, 包括施用有效量的 L-苏糖酸亚铁。

6. 权利要求 5 的方法, 其中所述 L-苏糖酸亚铁的量对于成人 0.01-1 克/天; 优选为 0.03-0.5 克/天; 更优选为 0.05-0.2 克/天。

7. L-苏糖酸亚铁的制备方法, 包括将 L-苏糖酸与二价铁的无机盐、氧化物或氢氧化物进行中和反应得到或由 L-苏糖酸钙和二价铁的无机盐进行复分解反应得到。

8. L-苏糖酸亚铁在制备用于改善和治疗贫血的药物中的应用。

9. L-苏糖酸亚铁在改善和治疗哺乳动物,特别是人体贫血中的应用。

10. 用于改善和治疗贫血,特别是缺铁性贫血、失血性贫血和溶血性贫血的L-苏糖酸亚铁。