

## 甲壳质/壳聚糖及其衍生物的应用化学

## APPLIED CHEMISTRY OF CHITIN/CHITOSAN AND ITS DERIVATIVES

李鹏程 宋金明

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

甲壳质(Chitin),也称几丁质、壳多糖,俗称甲壳素,是一种天然高分子聚合物,属于氨基多糖,学名为N-乙酰-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖,分子式为 $(C_8H_{13}NO_5)_n$ ,单体之间是以 $\beta(1\rightarrow4)$ 苷键连接,分子量一般在 $10^6$ 左右,理论含氮量6.9%。甲壳质广泛存在于无脊椎动物的外壳,昆虫的外骨骼,内角质层,真菌的胞壁中。在自然界中,甲壳质的年生物合成量高达千亿吨之多,是仅次于纤维素的第2大自然资源。由于甲壳质天然、无毒( $LD_{50}$  16 g/kg)和所具有的良好生物相容性、可降解性,以及独特的分子结构和物理、化学性质,使它在医学、药物制剂学、化工、食品、化妆品、印染、造纸、农业、环保以及酶的固定化载体等方面具有广泛的用途。甲壳质经过化学修饰和改性,如磺化、羧甲基化、酰化等可获得具有特殊性质和用途的甲壳质系列衍生物。将甲壳质分子中 $C_2$ 上的乙酰基脱去,就得到脱乙酰甲壳质,又名可溶性甲质素或壳聚糖,与甲壳质相比,壳聚糖的溶解性大为改善,因而其应用范围也更广。

## 1 甲壳质/壳聚糖产品制备

## 1.1 虾蟹壳制备甲壳质和壳聚糖

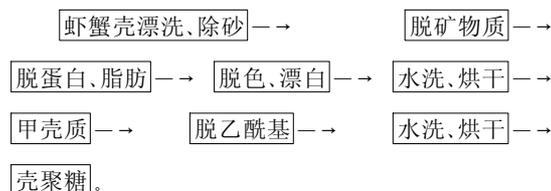
虾蟹壳是目前工业化生产甲壳质的主要原料。虾壳中甲壳质的含量为20%~25%,蟹壳中的含量在15%~20%之间,龙虾壳中含20%左右。我国是水产大国,虾蟹产量很大,为生产甲壳质和壳聚糖产品提供了丰富的原料基础。

## 1.2 生产原理

虾蟹壳中含有大量的矿物质(约40%),主要是碳酸钙,首先通过酸溶除去,然后在碱性条件下将其中的蛋白质水解,脂肪皂化,并将虾红素、虾黄素溶出,再经脱色、漂白、干燥即得纯净的甲壳质,甲壳质在浓碱、高温条件下可脱去分子中的乙酰基,成为脱乙酰甲壳质,即壳聚糖。

## 1.3 生产工艺

以中国科学院海洋研究所在山东建立的科海甲壳素厂为例,工艺过程如下



## 1.4 产品质量标准

甲壳质或壳聚糖产品的质量指标一般分为工业级和医药食品级。

工业级质量标准

外观:白色或淡黄色粒状团块

灰分:  $\leq 2\%$

水分:  $\leq 10\%$

不溶物:  $\leq 2\%$

pH值: 6.5~7.5

粘度: 100~1500 mPa·s(1%浓度)

脱乙酰基度:  $> 75\%$

医药食品级质量标准

外观:白色或淡黄色、微细、无嗅、活动性粉末

粒度: 小于300  $\mu\text{m}$

密度: 1.35~1.40 g/cm<sup>3</sup>

pH值: 6.5~7.5

灰分:  $< 1\%$

水分:  $< 10\%$

不溶物:  $< 1\%$

粘度: 20~500 mPa·s

脱乙酰基度:  $\geq 85\%$

化学纯度(%):

氯 0.01

收稿日期: 1998-05-20

硫 0.04

氟 0.01

重金属 0.002

微生物检查(个/g):

产气菌和真菌 < 150

霉菌和酵母菌 < 10

葡萄球菌 无

大肠杆菌 无

沙门氏菌 无

绿脓杆菌 无

校状芽孢杆菌 无

### 1.5 从昆虫和真菌中提取甲壳质

大多数种类的昆虫中含有甲壳质,在它们的外角质层一般含量较低,而内角质层含量很高,某些昆虫含量高达60%。不同昆虫的平均含量据报道在33%左右。某些真菌中含有大量甲壳质,因为甲壳质是细胞壁的组成部分。在Chytridiaceal, Blastodaiadae和Ascomytes以及所有的酵母菌丝状霉菌中都含有甲壳质,但含量不同,有的高达19%。从菌类中提取的甲壳质在分子结构排列上与从虾蟹壳中得到的有显著不同,因此,从菌类中提取的甲壳质具有某些特殊用途。从酿造工业的副产品中提取甲壳质将是一条很有发展潜力的途径,提取方法大致与上述类似。

## 2 甲壳质/壳聚糖的应用

### 2.1 在医学上的应用

#### 2.1.1 抗肿瘤作用

实验证明,壳聚糖通过增强机体非特异性免疫对肿瘤有抑制作用,机理主要是提高巨噬细胞活性,它可将ALK功能提高约3倍,提高对癌细胞有选择杀伤作用的NK细胞的活性4.5倍,并具有在血管细胞表面附着的特性,达到抑制癌细胞转移。

#### 2.1.2 抗凝血作用

壳聚糖的硫酸酯与肝素在化学结构上极为相似,实验证明,如果将甲壳质单体上的C<sub>6</sub>被-SO<sub>3</sub>H或另外的取代基所取代,则产物具有抗凝血活性,并且当产物的分子量与肝素相近时,其抗凝血活性最强。

#### 2.1.3 制造人工皮肤

以甲壳质为原料制成的人工皮肤,具有良好的组织相容性,并能加速创面愈合,因而受到临床的关注。制备的方法是将甲壳质溶于含有LiCl的DMAC混合溶剂中,流涎成膜,乙醇固化,真空干燥得到无色透明的人工皮肤薄膜,再经消毒、打孔即得产品。此产品贴

敷各种创伤面,有消炎、止痛、促进皮肤再生的功效,对创面无毒、无刺激性,相容性甚好。

#### 2.1.4 手术缝合线

利用高质量的甲壳质为原料制作的手术缝合线能加速伤口愈合,能被组织降解并吸收,可代替肠衣手术线,而性能在某些方面优于肠衣线。将高纯度的甲壳质粉末溶于适当的溶剂(如酰胺类溶剂),经湿法纺丝制得细丝,然后纺制成不同型号的缝合线。甲壳质缝合线的力学性质良好,能很好地满足临床要求。例如4-0号缝线的直拉强力为2.25×9.8N,润湿强力为1.96×9.8N,打结强力为1.21×9.8N,润湿打结强力为1.25×9.8N,此值优于羊肠线,但略低于聚乳酸(PGA)缝线。甲壳质缝线的伸长率亦很理想,在干燥状态下为10%~12%,在湿润状态下为17%~20%,与天然组织相当,并适于打结。在手术伤口愈合过程中,甲壳质缝线在体内的抗张强度逐渐下降。动物实验表明,埋植于家兔背部肌肉14d,其强度下降到原来的45%,25d后下降至7%。当缝线用于消化器官手术时,由于各种消化液的酸碱性差异很大,因而对于手术缝合线产生的影响也不同。当用人工胃液(pH=1.2),人体胆汁(pH=6.7),人体胰液(pH=8.2)对缝合线进行强力考察时发现,甲壳质缝线在胆汁和胰液中,30d后其抗张强度几乎没有发生变化,说明不受碱性消化液的影响。但是在胃液中30d后其抗张强度下降到原来的35%,说明在酸性条件下其抗张强度下降速度较快,受酸性消化液影响较大。

#### 2.1.5 止血剂和伤口愈合剂

甲壳质和壳聚糖都具有良好的止血和促进伤口愈合的作用。甲壳质在作为伤口促愈剂时,可采用不同的形式,如粉末、液体制剂或各种再生成形用品等。如果采用粉末形式,则其大小应在40μm以下,且应采用陶制球磨机粉碎甲壳质,不宜使用锤磨或其他粉碎装置,以免在粉末中混入金属。甲壳质的再生成形物包括无纺布、海绵、膜及包上甲壳质膜的普通肠线等。甲壳质及其成形物的伤口促愈效果见表1。

#### 2.1.6 医用微胶囊

利用壳聚糖制造微胶囊进行细胞培养和人工生物器官是其重要的应用方面。借助于壳聚糖聚阳离子特性与羧甲基纤维素等带负电性的高分子反应可制备不同类型的微胶囊,使高浓度细胞的培养成为可能。它不仅可避免微生物的污染,也容易进行产物的分离与回收。如果包封的是生物活细胞,如胰岛细胞、肝细胞等则构成人工生物器官。这种微胶囊半透膜可以阻止动物细胞抗体蛋白(IgG)进出,允许营养物质、

代谢产物和细胞分泌的激素等生理活性物质的出入,保证了细胞的长期存活。天津大学的孙多先教授等

用壳聚糖代替聚赖氨酸进行人工细胞的研究,用其包封血红细胞、肝细胞和胰岛细胞均取得了满意结果。

表 1 再生甲壳质的伤口促愈合效果

材料	动物对数 (兔子)	伤口撕裂强度	注
对照组: 未治疗	200	100.0 = 0 %	未治疗兔子的一般水平
甲壳质纤维	12	+ 32.9 %	作为纤维被使用
甲壳质棉球	12	+ 25.0 %	作为粉末被使用
甲壳质无纺布垫	12	+ 30.0 %	作为粉末被使用
甲壳质无纺布垫	12	120.0 %	作为药垫包埋在伤口中
被甲壳质膜的棉纱	12	+ 20.0 %	敷在伤口上
被甲壳质膜的手术线	12	+ 30.0 %	用作手术线

### 2.1.7 药物缓释剂

近来对甲壳质或壳聚糖用于药物缓释剂有大量报道,卢凤琦等研究了壳聚糖对尼莫地平(Nimodipine, ND)的溶出性能,证明壳聚糖对ND具有一定的缓释作用,且壳聚糖的脱乙酰度越高,其对ND的缓释作用越显著。结果还表明由虾壳和蟹壳制得的壳聚糖,其对ND溶出性能的影响是不同的,前者制得的壳聚糖对ND的缓释作用比后者明显得多。Shozo等曾用壳聚糖制备了消炎痛缓释颗粒,以猎犬为实验对象并与普通片剂作对照,结果显示该颗粒具有良好缓释效果,且缓释能力随壳聚糖比例增加而增大。血液浓度监测显示其有效血药浓度维持长达8h,无明显吸收峰。还有人将争光霉素加入甲壳质、氯化锂和二甲基乙酰胺的混合物中,制成缓释颗粒以减轻争光霉素的毒副作用,减少了给药的次数。Kawashima等人用甲壳质制备了长效阿斯匹林片,该研究表明,药物释放速度与甲壳质用量、物理状态及溶出介质的pH有关,增加其用量或使用水溶性脱乙酰甲壳质进行凝胶,则药物释放速率变慢。另外还有人研制了心得安、消炎痛、盐酸罂粟碱等药物的缓释片,其结果均表明药物的释放基本符合零级反应动力学。

甲壳质/壳聚糖在医药方面其他的一些作用,如作为崩解剂,口、鼻腔制剂,吸附解毒剂,制备接触眼镜及其清洗液。此外,在降低胆固醇、甘油三酯、降低胃酸,抑制溃疡等方面亦有明显效果。

### 2.2 在化妆品方面的应用

甲壳质和壳聚糖的衍生物可以用作护发剂、固发剂以及护肤剂。壳聚糖的有机酸盐是阳离子高分子电解质,溶于水,有很强的增粘、保湿、抗静电作用。甲壳质经过脱乙酰化处理,然后粉碎、配料、乳化制得的摩

丝,涂抹在头发上形成一层薄膜,硬度适中且不发粘,该摩丝具有与头发亲和性大、无异味、无副作用,抗静电效果好,更易于头发梳理、定型,光泽美观。

### 2.3 在纺织、印染、造纸方面的应用

在轻纺工业上,高脱乙酰壳聚糖可作为织物的上浆剂、整理剂,改善织物的洗涤性能,减少绉缩率,增强可染性,甲壳质也是无纺布的主要原料。壳聚糖具有增色和固色作用,可作直接染料和硫化染料的固色剂,可提高染料对织物的染色效果,改善色调,提高色牢度。在造纸工业中,可作为纸面施胶剂,若在纸浆中加入高脱乙酰壳聚糖,纸张的吸水性大大下降,并可提高纸张的机械性能、耐水性能、电绝缘性能以及印刷质量,因此用它可制造特种纸、商标纸、货币纸等。

### 2.4 在膜材料工业中的应用

甲壳质和壳聚糖均具有良好的成膜性能。通过选择不同的交联剂,经过改性,可获得不同性能的分隔膜,可用于化工产品分离,生物产品分离,海水淡化,废水处理以及超纯化水制备等方面,显示出独特的性能。近年来,壳聚糖在渗透汽化膜分离技术方面的研究获得可喜的进展,壳聚糖经戊二醛或丙烯酸或聚丙烯交联成膜用于乙醇-水体系的分离,效果很好,分离系数大大提高,效率提高近五倍。也有人研究了壳聚糖与醋酸纤维素共混成膜技术用于醇-水分离的渗透汽化性能,适合于乙醇含量为50~95wt%的乙醇水溶液,当料液中的水含量增加时,膜的渗透通量随之增加,分离系数在乙醇浓度为80wt%时达到最大值。由于渗透汽化膜分离技术能耗低,分离效率高,污染小等特点,发展潜力巨大,壳聚糖作为一种优质膜材料,越来越受到人们的重视。近来日本已开发出壳聚糖塑料降解地膜。生物可降解地膜的应用和生产,

是解决目前“白色污染”的根本途径。壳聚糖地膜具有生物可降解性,无污染,成本低,强度高等特点,并且具有改良土壤的作用。

## 2.5 在环保方面的应用

在壳聚糖众多优异特性中,吸附性能是最令人瞩目的特性之一,它可以吸附金属离子、染料、蛋白质等,用于金属富集、回收、分离、污水处理等。壳聚糖对于多种金属离子,如  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Au}^+$  等有很强的吸附作用,能有效的从工业废水中吸附各种重金属离子,达到在处理废水的同时回收贵金属。应用壳聚糖从工业废水中回收铜,已达到工业化,目前正在研究利用壳聚糖从海水中提取铀。作为絮凝剂,壳聚糖对于活性污泥有很强的絮凝作用,而且毒性低,能被生物降解。壳聚糖亦能有效地处理食品工业废水,沉淀废水中的悬浮物。

## 2.6 其他方面的应用

在生化领域,壳聚糖是一种理想的固定化酶载体,对于提纯胰蛋白酶,人尿胰蛋白酶,糖化酶,以及木瓜蛋白酶,胃蛋白酶等均获得满意的效果。壳聚糖有很强的杀菌能力,可用于食品和果蔬的防腐保鲜。壳聚糖还可用于彩色电影胶片,能保护胶片的色彩,并能延长影片放映次数。

## 3 甲壳质/壳聚糖的衍生物化学

甲壳质和壳聚糖分子内的羟基-OH,氨基-NH<sub>2</sub>易进行化学反应,如酰基化,磺化,羧甲基化,羟乙基化,醛亚胺化、氰基化等,通过上述化学反应,分子中引入不同性能的官能团,可获得具有不同性能和功效的甲壳质/壳聚糖衍生物,从而拓宽了甲壳质/壳聚糖的应用领域,提高了甲壳质/壳聚糖的应用价值。

### 3.1 甲壳质/壳聚糖的酰基化

通常,线性脂肪酰基化衍生物可在甲醇或吡啶/氯仿溶剂中制得,如甲酰、乙酰、己酰、癸酰、十二酰、十四酰衍生物。支链脂肪酰基化,如N-异丁酰化,N-三甲基乙酰化,N-异戊酰化等,在甲酰胺溶剂中反应得到。而芳烃酰基化产物,如N-苯甲酰,N-甲苯酰等衍生物则通常在甲磺酸溶剂中获得。酰基化衍生物溶解性大大增强,琥珀酰基壳聚糖及O-羟乙基壳聚糖可溶于水、稀酸和稀碱中。己酰、癸酰、十四酰甲壳质溶于苯、苯酚、THF、二氯乙酸;己酰甲壳质还溶于丁醇、乙酸乙酯、甲酸、乙酸中。苯甲酰甲壳质可溶于苯甲醇、DMSO、甲酸和二氯乙酸中。

酰基化壳聚糖可制成多孔微粒用作分子筛或液

相色谱载体,分离不同分子量的葡聚糖或氨基酸,也可制成胶状物用作酶的固定化和凝胶色谱载体。N-己酰基、N-辛酰基壳聚糖是血液相容性材料。酰化甲壳质还具有抗凝血性能,其中乙酰甲壳质效果最佳。壬酰基甲壳质具有很强的金属离子络合能力;N-马来酰基壳聚糖与丙烯酸共混物,可溶于水,其胶状物具有很好的机械性能,固定抗体于此材料中可有效地减低血浆中肝炎病毒的抗原值。

### 3.2 甲壳质/壳聚糖的硫酸酯化

甲壳质/壳聚糖的硫酸酯化反应是其化学修饰中最吸引人的领域。由于它们与肝素有相似的结构,经硫酸酯化,引入-NHSO<sub>3</sub>H、-COOH、-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>OSO<sub>3</sub>H基团后得到甲壳质(壳聚糖)类肝素药物,显示出抗凝血性能。表2为不同甲壳质/壳聚糖类肝素结构与抗凝血性能的关系。

通常硫酸酯化试剂有:浓硫酸、发烟硫酸、SO<sub>3</sub>/吡啶、SO<sub>3</sub>/SO<sub>2</sub>、SO<sub>3</sub>/DMF,氯磺酸/吡啶。

甲壳质或羧甲基甲壳质在氯磺酸/吡啶作用下,可得到磺化甲壳质或磺化羧甲基甲壳质。壳聚糖与SO<sub>3</sub>/DMF反应可制得N,O-硫酸化壳聚糖(S-DAC)。在抗凝血因子III(AT-III)存在下,脱乙酰度分别为45%,70%,95%的硫酸化壳聚糖S-DAC-45,S-DAC-70,S-DAC-95的抗凝血活力顺序为:S-DAC-70>S-DAC-45>S-DAC-95

O-羧甲基壳聚糖在SO<sub>3</sub>/吡啶条件下可获得N-硫酸化-O-羧甲基壳聚糖。为了在C<sub>6</sub>位得到-COOH基团,甲壳质或壳聚糖可用HClO<sub>4</sub>和CrO<sub>3</sub>氧化C<sub>6</sub>位上的CH<sub>2</sub>OH。

从表2可以看出,O-硫酸化甲壳质具有25%的肝素活力;N-硫酸化壳聚糖无活力,但当C<sub>6</sub>硫酸化-N-羧甲基化壳聚糖则有45%的肝素活力。可见C<sub>6</sub>位上-CH<sub>2</sub>OSO<sub>3</sub>H基团可提高其活力。N-硫酸化基团(-NHSO<sub>3</sub>H),虽不是活力存在的先决条件,但对活力影响也很大。另外分子量也是影响其活力的主要因素之一。

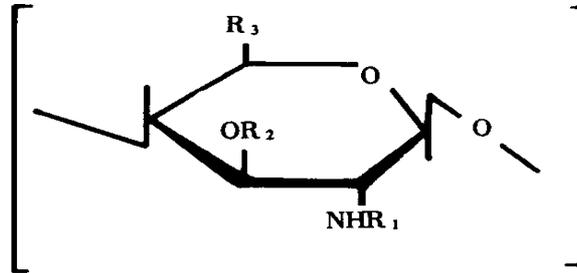
### 3.3 甲壳质/壳聚糖的羧基化和羟基化

#### 3.3.1 羧基化

甲壳质或壳聚糖在碱性条件下,与一氯乙酸反应可得到O-羧甲基甲壳质或壳聚糖。也可在DMSO溶剂中对溶胀甲壳质进行羧甲基化,可避免强NaOH对甲壳质的降解。

羧甲基甲壳质具有聚电解质性能,对牛血清蛋白具有很强的吸附能力,更主要的是羧甲基甲壳质可用于制取人造红细胞。

表 2 壳聚糖衍生物类肝素结构与抗凝血活性



化合物(mol wt)	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	抗凝血活性(a)			
N, O-硫酸化壳聚糖(12000)	SO <sub>3</sub> Na	H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> Na	CH <sub>2</sub> OSO <sub>3</sub> Na	110~ 160 (b)			
				30~ 40 (c)			
				3~ 5 (d)			
				0 (e)			
				14~ 52 (f)			
O-硫酸化 N-乙酰壳聚糖(26000)	Ac	SO <sub>3</sub> Na	CH <sub>2</sub> OSO <sub>3</sub> Na	40 (f)			
				190~ 220 (b)			
				40~ 50 (c)			
				3~ 5 (d)			
				0 (e)			
O-羧甲基 N-硫酸化壳聚糖(540000)	SO <sub>3</sub> Na	H	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Na	25 (f)			
				20~ 30 (b)			
				10~ 30 (e)			
				3~ 5 (d)			
				0 (e)			
	SO <sub>3</sub> Na	H	CH <sub>2</sub> OH	0 (f)			
				SO <sub>3</sub> Na	H	CO <sub>2</sub> Na	23 (f)
				SO <sub>3</sub> Na	SO <sub>3</sub> NaH	COH <sub>2</sub> Na	45 (f)
				CH <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> Na	H	CH <sub>2</sub> OSO <sub>3</sub> Na	45 (f)

a) 以肝素抗凝血活力(174 单位/mg= 100)为基准; b)APTT 时间试验; c)TT 时间试验; d)AA 时间试验; e) 抗 Xa 因子活性; f) VSP 测定。

壳聚糖与乙醛酸反应,再经 NaCNBH<sub>3</sub> 还原可制得N-羧甲基壳聚糖。它具有抑菌和增粘保湿作用,可添加于牙膏、化妆品中。它还能络合过渡金属离子形成不溶性盐。壳聚糖在乙酰丙酸作用下可得到N-羧丁基壳聚糖,它溶于水和乙醇——水溶液中,也具有很强的抑菌作用,可用作人造皮肤、乳化稳定剂和化妆品中活性组分。

### 3.3.2 羟基化

甲壳质在乙醇、异丙醇溶剂中可与环氧乙烷或2-氯乙醇反应制得乙二醇甲壳质,它易溶于水,在化妆品中可用作固定胶,润肤霜等,也可用作溶菌酶活力测定底物。乙二醇甲壳质与5-氟尿嘧啶钾盐的反应产物,还具有抗肿瘤性能。

### 3.4 其他反应

醛亚胺反应-Schiff碱反应,壳聚糖在甲醇/乙酸介质中与过量醛反应可得到相应的醛亚胺化衍生物。此衍生物可保护胺基,使其不被氧化和水解,也可在 NaCNBH<sub>3</sub> 作用下氢化还原制得N-烷基化衍生物。醛

亚胺化衍生物常作为酶固定化和凝胶色谱载体。

壳聚糖可在三乙胺存在下或在 NaOH/N-甲基-2-吡咯烷酮存在下与 ICH<sub>3</sub> 作用生成季铵盐-N-三甲基壳聚糖碘化物,它可作为抗菌素和离子交换材料。壳聚糖还可在 NaOH 存在下与丙烯酰反应制得O-氰基化壳聚糖,它与硝化纤维素共混可制得耐高温灭菌性能良好的微孔滤膜。

另外,甲壳质/壳聚糖在不同的氧化——还原体系引发下,可与多种烯类单体发生接枝聚合,不同接枝聚合物具有不同性能,因此,甲壳质/壳聚糖的接枝聚合将是又一个研究开发的新领域。

### 主要参考文献

- 1 曾名勇. 中国海洋药物杂志,1995,1: 49~ 52
- 2 Muzzarelli, R. A. A. . Chitin, Oxford: Pergamon Press, 1977.1~ 80