甲壳质及其衍生物生理活性研究进展

PROGRESSES OF CHITIN AND THE DERIVATIVES ON PHYSIOLOGICAL ACTIVITY

王真 陈西广 郎刚华 刘万顺 刘晨光

(青岛海洋大学 266003)

甲壳质是自然界中含量丰富且具有重要生物活性的一种天然多糖,其分子的部分基团进行修饰后可产生多种衍生物,这些衍生物既保留甲壳质的部分活性功能,又具有其本身独特的生理作用,因此,甲壳质及其衍生物在研究与开发应用方面具有广阔的前景,成为目前多糖领域中的研究热点。下面就甲壳质及其衍生物的生理活性研究作一综述。

1 伤口促愈活性

甲壳质及其衍生物在伤口愈合过程中有作用已得到证明。已研究发现,伤口愈合的过程中,上皮细胞、内皮细胞、巨噬细胞和成纤维细胞的作用都很重要,甲壳质及其衍生物对这些细胞均有不同程度的影响。Malette 等 1988 年, Sathirakul 等 1996 年^[16]发现壳多糖可明显促进内皮细胞的生长,在血管发生的过程中起着重要的作用。K. Nshimura 等人 1984 年研究发现羧甲基甲壳质 (CMChitin) 及壳多糖可增强巨噬细胞的活性, T. Nakade 等^[2]发现甲壳质在伤口愈合过程中可促进巨噬细胞的增殖。

甲壳质及其衍生物也影响着伤口愈合过程中成纤维细胞的增殖。黄亦武,陆放等 1994 年, Takashi 等 1997 年^[17]研究发现壳多糖可抑制成纤维细胞的增殖。壳多糖对成纤维细胞的抑制作用可能是其在伤口愈合的过程中抑制瘢痕增生的原因,这一结论同动物模型实验中所表现出伤口愈合稍慢的现象是一致的,但未发现甲壳质及其他衍生物对成纤维细胞增殖有抑制作用,相反,羧甲基壳多糖表现出对成纤维细胞有促进增殖作用^[1]和对瘢痕增生有抑制作用,说明这类物质对不同的成纤维细胞的增殖可能有不同的调控机理。

甲壳质及其衍生物在伤口愈合过程中对细胞的粘附、趋化、转移也起着重要的作用, H. Endo 等 1994

年在鼠的伤口愈合过程中发现甲壳质可促进细胞的转移,聚集软组织细胞,从而促进软组织的形成。另外,甲壳质,壳多糖及其衍生物对血液有很好的相容性,可吸附血清蛋白,减少炎症渗出,促进物质的运输,这些功能在伤口愈合过程中均发挥着重要作用。

动物模型实验证实了甲壳质及其衍生物在伤口愈合过程中的作用。Okamoto 等人 1991 年在狗的开放性伤口愈合试验中发现用甲壳质和壳多糖治疗的伤口,其上皮再形成速度加快,伤口愈合加快。Sathirakul 等人^[16]将甲壳质及壳多糖制成医用绷带, M. Saburo 等用甲壳质及壳多糖制成各种生物填充剂,用于治疗损伤,均发现良好的促伤口愈合和抑制瘢痕及炎症渗出的作用。

2 凝血与抗凝血活性

壳多糖本身具有凝血活性, S. Hirano 1985 年发现壳多糖具有凝血酶原活性。将甲壳质制成棉花状纤维,可在 2 min 内使狗的肝脏完全止血^[3]。由于壳多糖的凝血活性,目前已用壳多糖制得止血纱布、止血海绵、人工血管等。甲壳质及壳多糖的凝血活性使其更适合作为外科手术材料。

壳多糖由于它的 1,4 连接,线性分子,氨基及乙酰基的存在,使其成为生产肝素类似物的理想原料,将其在均相条件下进行化学修饰,可制成甲壳质肝素类似物。这些修饰主要有硫酸酯化及羧甲基化,引入硫酸化氨基及 N 甲酰基等。在体内, N 和 O 硫酸化的壳多糖具有肝素的 15%~45% 的活性,然而仅是壳多糖 N 硫酸化却无抗凝血活性。S. Hirano 等人 1985 年发现氨基己糖分子中部分 6 位上的硫酸基是

* 海洋 863 资助项目 818-07-01 号。

收稿日期:1999-10-12;修回日期:1999-12-12

抗凝血的主要的活性基团,去掉此基团,就没有抗凝血活性;3位上的硫酸基也可促进抗凝血活性,但不是必需的。S. I. Nshimura 等人1986年在硫酸化的甲壳质上引入羧甲基后,抗凝血活性增强,显示了同肝素类似的抗凝血活性。Mizzarelli 1984年研究发现硫酸化的 N 羧甲基化壳多糖可抑制凝血酶及 X 因子,对红细胞和淋巴细胞无破坏作用,不产生溶血。

3 免疫与抗肿瘤活性

甲壳质及壳多糖可强化机体免疫力。Nakade 等^[12]发现甲壳质可促进中性粒细胞和巨噬细胞的增殖。S. Neville 等^[13]将壳多糖添加到流感疫苗中,发现壳多糖可增强保护性的 IgA 黏膜免疫反应及 IgG 系统免疫反应。

脱乙酰度和结构不同的甲壳质及其衍生物免疫活性不同。K. Nshimura 等人1988年研究发现,脱乙酰度为70%~30%的甲壳质、硫酸化的甲壳质及羧甲基的壳多糖都可促进 α -淀粉酶抗体(B α A)的形成,而非水溶性甲壳质的促进作用是很弱的。脱乙酰度为30%和70%的甲壳质, P-Chitin, S-Chitin 在 ABA-Tyr 诱导的迟发性超敏反应过程中都表现出很强的佐剂活性。甲壳质及其衍生物可增强自然杀伤细胞介导的细胞毒性,脱乙酰度为70%的甲壳质对异源细胞介导的细胞毒性作用最大,并刺激了 IL-1 的产生。

聚 N-乙酰-D-葡萄糖胺链的长短也影响其免疫活性。Yasuyuki 等人^[19]研究发现由6个 N-乙酰-D-葡萄糖胺及5-6个 D-葡萄糖胺形成的寡聚体在刺激犬的多形核细胞的趋化性活性方面是最有效的,且后者是前者的7倍。混有甲壳质及壳多糖的血清中补体活性降低,但单个 D-葡萄糖胺或 N-乙酰-D-葡萄糖胺及其寡聚体并没有降低血清中补体的水平。这些结果表明, D-葡萄糖胺诱导了高水平的直接的多形核细胞的趋化性活性,而补体介导的趋化性活性仅被甲壳质及壳多糖诱导,而不被它们的单体及寡聚体诱导。

对甲壳质抗肿瘤活性进行研究,发现甲壳质具有良好的抗肿瘤活性。体内实验证明了甲壳质对癌细胞有杀伤作用。将艾氏腹水癌细胞或肿瘤细胞移植到鼠的腹腔中,投喂甲壳质,结果显示病鼠的治愈率达67%。而甲壳质的体外实验没有显示出对癌细胞的杀伤作用,表明甲壳质对癌细胞的抑制是通过免疫系统作用的。I. Kazushi 等^[6]发现用含有壳多糖衍生物的

柱子处理的血液,可刺激免疫系统,诱导产生抗肿瘤细胞因子。壳多糖表面带正电荷,可中和癌细胞表面的负电荷,具有直接抑制肿瘤细胞的作用。

甲壳质及壳多糖分子中偶联抗肿瘤药物或活性基团,可产生新型的抗肿瘤药物。H. Kamazawa 等人1993年将甲壳质的硫酸化和羧甲基化的衍生物与多肽 Arg-Gly-Asp-Ser(RGDS) 连接形成一种新的化合物 SCMChitin-RGDS,发现对 L5178Y-ML25 淋巴瘤细胞及 Colon26 MB.1 细胞的抑制作用强于 SCMChitin, RGDS 及其混合物,并且发现 SCMChitin-RGDS 明显抑制癌细胞转移,为治疗癌细胞转移提供新的思路。S. Kyotani 等人1992年用甲壳质和壳多糖准备了各种不同类型的二胺三氯铂白蛋白微球,抗肿瘤实验证明这种微球的抗肿瘤活性明显增强,且对肝脏及肾脏功能无影响。

4 降血脂与降胆固醇活性

动物实验证明壳多糖在胃中能 与胃酸作用形成凝胶,在肠内可以保持凝胶状态,不分解,具有吸附胆固醇,胆汁酸和脂肪的作用。吸附后,胆汁酸、胆固醇和脂肪与壳多糖凝胶随着粪便排出体外,从而降低了机体对胆固醇和脂肪的吸收。

M. Girida 等^[10], Igaku 等^[4]研究发现壳多糖可降低血中总胆固醇,低密度胆固醇和甘油三酯,提高了高密度胆固醇的含量。这些作用的发挥与壳多糖服用剂量有关。Razdam 等^[15]用壳多糖饲喂小鸡,除发现血清胆固醇变化外,还发现小鸡体重明显降低,十二指肠中胆汁酸浓度降低,推测壳多糖的作用可能是干扰了肝脏中胆汁循环。甲壳质及壳多糖降低血清胆固醇的作用对治疗高血脂有重要意义,在食品工业上也可将其制成降脂和减肥食品。

5 抑菌活性

壳多糖的抗真菌、细菌及霉菌的作用都有报道。壳多糖在体外抑制真菌的作用要比甲壳质显著,除了那些细胞壁含有甲壳质成分的真菌外,壳多糖对多数真菌都表现出明显的抑制生长的作用。

壳多糖对多种细菌表现出抑制作用,例 *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*^[7]。Kim 等^[11]在甲壳质及壳多糖上引入 DEAE 和 TEAE 基团制成复合物,发现其抗菌活性增强,并且抗

菌活性主要依赖于结构,部分依赖于分子量,按 DEAE-chitin, DEAE-chitosan, TEAE-chitin 顺序抗菌活性依次增强。S. Tokura 等^[18]研究也发现壳多糖的抗菌活性与分子量有关,他采用异硫氰酸荧光素标记发现分子量为 9 300 的壳多糖可堵塞 *E. coli* 的细胞壁,表现出对 *E. coli* 生长的抑制作用,而分子量为 2 200 的壳多糖可透过细胞壁,对 *E. coli* 表现出生长的促进作用,所以他认为壳多糖对菌生长的抑制作用可能是阻止了营养物质进入细胞中。壳多糖的聚阳离子特征和细胞膜表面负电荷相互作用,它可能改变了细胞的通透性,Leuba 1985 年发现在 pH 5.8 的情况下,壳多糖明显促进了蛋白类成分的释放。

K. Atsumi 等^[5]报道了壳多糖抗霉菌作用。壳多糖不仅可抑菌,还可杀死寄生虫,是一种很有开发前途的抗寄生虫剂和抑菌剂。

6 药物缓释活性

甲壳质及其衍生物无毒,且具有良好的生物亲和性及生物可降解性的特性,在缓释药物和定向输送药物方面具有重要的开发和研究价值。用壳多糖做成缓释胶囊,药物缓释膜,可使药物作用缓慢持久释放。利用壳多糖缓释胶囊可使药物通过中空纤维的壁恒定地向外扩散,并在相当长的时间内维持恒定的释放速度。Aiedh 等^[8]用壳多糖微球控制胰岛素在最适的时间内均匀释放,壳多糖的含量是控制基质的物理和化学性质的主要因素。K. Oungbho 等^[14]用壳多糖海绵来控制药物的释放,通过乙酰化和交联可降低壳多糖的溶解度,从而降低其对药物的释放速度,壳多糖对药物的释放作用也受 pH 影响。

利用壳多糖作为药物缓释载体,可使药物迅速到达靶部位,提高机体对药物的利用率。Elein 等^[9]取壳多糖和白蛋白制成复合物 Chitosanalbumin,可携带内皮细胞生长因子迅速进入作用区,缓慢释放并充分发挥作用,促进血管形成。Kotze 等^[12]研究发现 N-三甲基壳多糖的盐酸盐可作为黏膜表面潜在的吸附增强剂,可导致 Caco-2 细胞跨膜抑制电位明显降低,促进水溶性化合物的转移,这种作用对运输水溶性药物起重要的作用。

7 其他

壳多糖的自由氨基可结合等当量的酸,是一种

很有价值的抗溃疡材料。壳多糖及其盐可以治疗胆红素过多症,降低血糖,治疗肾功能衰竭,制成肾透析膜等。

甲壳质及其衍生物由于具有以上多种生理活性,而且在农业,纺织,食品,化妆品,环境污染处理等方面有着重要的作用,已越来越被人们重视。对甲壳质的研究,国内外已不仅限于基础研究,而且加快了实用化的进程。充分开发丰富的甲壳质资源,无疑将对人类健康和社会经济发展作出巨大贡献。

参考文献

- 1 刘万顺,陈西广等.生物化学杂志,1997,增刊:218
- 2 Nakade T. et al. Nippon Juushikai Zasshi, 1996, 49(4): 249-252
- 3 Ltd U. et al. Kokai. Tokyo. Koho. JP. 1996, 09 169 653.1997
- 4 Igaku N. et al. Igaku. No. Ayumi., 1997, 181(12): 1 061-1 062
- 5 Atsumi K. et al. Kokai. Tokyo. Koho. JP. 09 136 992. 1996
- 6 Kazushi I. et al. Kokai. Tokyo. Koho., JP 09 87 181, 1997
- 7 Myazawa F. et al. Mankaito. F. Konbatekku, 1997, 25 (4): 5-7
- 8 Aiedh K. et al. J. Microencapsulation, 1997, 14(5): 567-576
- 9 Elein Y. et al. Artif. Cells. Blood Substitutes, Immobilization Biotechnol., 1996, 24(3): 257-271
- 10 Cirola M. et al. Acta. Toxicol. Ther., 1996, 17(1): 25-40
- 11 Kim C. H. et al. Poly. Adv. Technol., 1997, 8(5): 319-32
- 12 Kotze A. F. et al. Pharmaceutical Research, 1997, 14 (9): 1 197-1 202
- 13 Neville S. et al. PCT. Int. Appl. Wo., 97 16208
- 14 Oungbho K. et al. Int. J. Pharm., 1997, 156(2): 229-237
- 15 Razdan A. et al. Br. J. Nutr., 1997, 78(2): 283-291
- 16 Sathirakul K. et al. Adv. Chitin. Sci., 1996, 1: 490-492
- 17 Takashi M. et al. Biomaterials, 1997, 18(13): 947-951
- 18 Tokura S. et al. Microbiol. Symp., 1997, 120: 1-9
- 19 Yasuyuki U. et al. Carbohydr. Polym., 1997, 32(2): 115-122

(本文编辑:张培新)