

# 壳寡糖的研究进展

胡志鹏

(山东大学 生命科学院, 山东 济南 250100)

**摘要:** 介绍了壳寡糖的制备方法和生理功能, 并对其应用进展和市场前景作一综述。

**关键词:** 壳寡糖; 壳聚糖; 制备; 应用

中图分类号: Q538 文献标识码: A 文章编号: 1005 1678(2003)04 0210 03

## Research advances in chitooligosaccharides

HU Zhi peng

(School of Life Science, Shandong University, Jinan 250100, China)

甲壳质(chitin), 广泛存在于昆虫、甲壳类动物外壳、真菌细胞壁及一些藻类中, 是由 N-乙酰氨基葡萄糖聚合而成的多糖。甲壳质经脱乙酰化处理得到壳聚糖(chitosan)。近十几年来, 甲壳质、壳聚糖的研究已在国内外广泛展开, 它们在抗肿瘤、防治病原微生物方面的功能越来越引起人们的重视。但由于其不溶于水, 在开发应用上受到很大限制。为此, 通过适当方法将壳聚糖降解为壳寡糖(又称寡聚氨基葡萄糖、甲壳低聚糖, chitooligosaccharide, chitosan oligosaccharide), 即由 2~10 个氨基葡萄糖通过  $\beta$ -1,4 糖苷键连接而成的低聚糖。通过一系列实验发现, 其不但水溶性好, 易被人体吸收, 具有抑菌、抗肿瘤、调血脂、调节免疫及活化肠道双歧杆菌等多种生理功能, 而且应用领域大大拓宽。目前壳寡糖在精细化工、生物医药、保健食品及农林畜牧等方面具有独特的应用价值。

### 1 壳寡糖的制备

#### 1.1 化学法

化学法降解壳聚糖包括酸解法、过氧化氢及过硼酸钠降解法等。酸解法一般用盐酸水解, 但其产品多在四糖以下, 而且化学反应条件十分严格, 不易控制, 后处理也繁琐, 故不够理想<sup>[1]</sup>。文献报道以过氧化氢降解法居多。

卢凤琦等<sup>[2]</sup>研究了在酸性条件下过氧化氢对壳聚糖的氧化降解反应。结果表明, 为制备分子量小于 10 000 的壳聚糖, 采用 3% 过氧化氢溶液, 反应温度 80℃, 反应时间 2~3 h 比较适宜, 产品大部分为水溶性低聚糖。

邵健等<sup>[3]</sup>在中性条件下采用过氧化氢溶液对壳聚糖进行氧化降解, 制备了分子量为 1 000 左右的药用低聚氨基葡萄糖。讨论了不同的过氧化氢浓度、配比、温度和反应时间对降解反应的影响, 并用傅立叶红外分析表征了产物的结构。

李邦良等<sup>[4]</sup>直接用过氧化氢溶液对高分子量、高脱乙酰度的壳聚糖进行非均相降解, 制备了水溶性甲壳低聚糖产品, 进行了红外光谱结构表征, 并用高效毛细管电泳测定了寡糖的聚合度。结果表明, 水解温度 80℃~90℃, 过氧化氢浓度 8%~10%, 水解时间 0.5~1.0 h 时, 水溶性产品的得率为 40%~45%, 聚合度为 3~7 的寡糖占水解产物的 36%~50%。该法制备壳寡糖是可行的, 有望进行工业化生产。

李继珩等<sup>[5]</sup>用过氧化氢降解壳聚糖并观察浓度、温度及反应时间的影响和 pH 变化, 同时观察过氧化氢对壳聚糖的降解作用。结果表明, 壳聚糖经降解可生成白色水溶性壳寡糖, 收率 62.3%, 分子量在 500~700 之间, 有关因素对反应均有影响。

丁盈红等<sup>[6]</sup>利用微波辐射, 过氧化氢非均相降解壳聚糖。采用正交试验法, 得到最优化反应条件为: 5% 过氧化氢、5% 壳聚糖、微波辐射功率 400 W, 辐射时间 3 min, 所得壳寡糖分子量为 11 000, 收率为 60%。

Kubota 等<sup>[7]</sup>报道了一种用过硼酸钠降解制备壳寡糖的简单方法, 通过该方法制备的壳寡糖不仅溶于水, 而且在二甲乙酰胺和二甲亚砷等有机溶剂中有很好的溶解性。

#### 1.2 酶降解法

酶法降解壳聚糖分为专一性酶和非专一性酶降解。壳聚糖酶广泛分布于细菌和真菌中, 其主要作用于  $\beta$ -1,4 氨基葡萄糖苷键。各种壳聚糖酶降解部分乙酰化的壳聚糖可得到壳寡糖。从纤维素与壳聚糖的结构相似得到启示, 发现纤维素酶可以降解壳聚糖。迄今为止, 已发现有 37 种各类水解酶, 如蛋白酶、脂肪酶、糖苷酶等对壳聚糖都有降解效果<sup>[1]</sup>。

Zhang 等<sup>[8]</sup>研究了复合酶降解法制备壳寡糖的方法, 发现用纤维素酶、 $\alpha$ -淀粉酶和蛋白酶复合降解与膜分离耦合使用, 可将脱乙酰度为 24% 的壳聚糖降解为聚合度为 3~10 的壳寡糖。

杜昱光等<sup>[9]</sup>以壳聚糖为原料, 研究了酶法降解制备壳寡糖的方法。通过对专一性和非专一性降解用酶的筛选, 确定

收稿日期: 2003-01-10

作者简介: 胡志鹏(1982), 男, 江苏淮阴人, 生物技术专业, 参与酶法制备壳寡糖产业化工作。

以壳聚糖酶或 6036 酶为降解酶,探索了球孢白僵菌发酵酶液代替 6036 酶粉的可能性,考察了底物浓度、酶量、温度、pH、溶解介质等因素对降解反应的影响,探讨了提高和控制壳寡糖聚合度的方法,在此基础上进行了扩大试验,确认了该过程实现工业化生产的可行性。

## 2 壳寡糖的生理功能

### 2.1 生物活性

壳寡糖水溶性大于 99%,人体吸收率 99.88%,从而比壳聚糖具有更优越的生物活性。它能改善肠道微生物的区系分布,刺激有益菌的生长,其药理活性是同等重量壳聚糖的 14 倍。实验证明,壳寡糖应用于乳制品,可使双歧杆菌增生 120 倍。

Kim 等<sup>[10]</sup>研究了壳寡糖对大鼠的亚急性毒性,分别采用 500、1 000、2 000 mg/(kg·d) 给药,4 周后观察,结果显示,对照组和实验组不仅在行为、外表、体重、食物消耗等方面均无显著性差异,而且在尿分析、血液学和组织病理学等方面也无显著性差异。提示壳寡糖的亚急性毒性非常小。

### 2.2 抗菌抑菌作用

壳寡糖具有明显的抗菌抑菌作用。夏文水等<sup>[11]</sup>通过对大肠埃希菌的抗菌抑菌活性试验,证明其抑菌作用也是随壳寡糖分子量的降低而逐渐增强的,尤以分子量为 1 500 左右时抗菌效果较好。而且,通过比较实验,还证明了游离氨基的存在是壳寡糖抗菌抑菌作用的基础。Shin 等<sup>[12]</sup>用分子量为 1 814,脱乙酰度为 84% 的壳寡糖处理非编织布料,发现 0.01% 的浓度对普通变形杆菌的抑菌率就达到 90%,而对金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌需 0.05%,对肺炎克雷伯杆菌和铜绿假单胞菌即使浓度达 1.0%,抑菌率也只有 30%。因此,壳寡糖的抑菌活性还与菌种有关。

Choi 等<sup>[13]</sup>发现分子量为 2 000~30 000,脱乙酰度为 91.5% 的壳寡糖对伴放线放线杆菌和突变链球菌两种口腔病原体有灭活作用。通过电镜观察,壳寡糖可导致伴放线放线杆菌细胞膜的破裂。提示,壳寡糖有望开发为治疗与伴放线放线杆菌有关的牙周疾病。

### 2.3 抗肿瘤作用

壳寡糖能提高机体的免疫活性和抗癌能力。Ouchi 等<sup>[14]</sup>研究发现 3 个壳寡糖通过六亚甲基空间通道与 5 氟尿嘧啶(5FU)共轭结合后,其抗肿瘤作用强于 5FU;将该复合物注入 P<sub>338</sub> 淋巴细胞白血病小鼠的腹腔中,小鼠的生存时间延长;通过皮下注射应用于 MeHf A 纤维肉瘤或 MH134 肝细胞癌小鼠,产生对肿瘤生长的抑制作用。

刘莹等<sup>[15]</sup>探讨了壳寡糖对人结肠癌 LoVo 细胞株生长的影响,发现高浓度壳寡糖(100、200、400 mg/L)对 LoVo 细胞的生长有抑制作用。

杜昱光等<sup>[16]</sup>通过几种壳寡糖对小鼠 Sarcima 180 癌细胞的抑制作用实验,筛选出具有较强作用的壳寡糖。结果表明,3 种壳寡糖对癌细胞 DNA 合成的抑制率效果最好的是 G-III-2,抑制率达 98.5%。口服中剂量或高剂量壳寡糖 G-III-2 对肿瘤有抑制作用。对多种肿瘤细胞体外抑制实验表明,壳

寡糖对肝癌细胞有明显抑制作用,平均抑制率达 76%,高于顺铂组及对照组,同时对小鼠肝癌腹水细胞的生长也有一定的影响。

### 2.4 植物的防病抗病活性

壳寡糖还可作为植物调节剂,增强植物对病虫害的防御能力。1985 年 Albersheim 等<sup>[17]</sup>首次提出了寡糖素(oligosaccharins)这个新概念和新领域,并认为寡聚糖具有调控植物生长、发育、繁殖、防病抗病等方面的功能,能够刺激植物的免疫系统反应,激活防御反应,产生具有抗病害的活性物质,抑制病害的形成。经实验室生物活性测定和田间药效实验,证明其对番茄早疫病、黄瓜白粉病、棉花黄萎病、大豆病毒病、辣椒病毒病、木瓜病毒病等均有很好的预防效果。壳寡糖的诱抗活性与壳寡糖的聚合度及脱乙酰度密切相关,低聚合度及高脱乙酰度的壳寡糖诱抗活性高<sup>[18]</sup>。

## 3 壳寡糖的应用进展及市场前景

### 3.1 精细化工领域

壳寡糖来源于生物提取物,其特殊的分子结构决定了壳寡糖具有优良的保湿增湿性能,同时可抑制皮肤表面细菌,活化表皮细胞,增强皮肤弹性,与传统的保湿增湿剂相比,保湿效果较佳,从而应用于美容、化妆、护肤、抗衰老等精细化工领域。日、韩等国利用壳寡糖的特殊功能已研制出多种日化产品,如“Essence”、“Cleansing Cream”等。壳寡糖的绿色天然的特性符合世界日化产品的发展趋势,含天然活性物质的化妆品顺应回归自然、科学美容的消费趋势,具有很大的发展潜力。据报道欧洲现有 60 多个与壳寡糖相关的化妆品品牌,年需求壳寡糖 1 500 吨,我国化妆品年销售额从 1982 年的 2 亿元人民币发展到 2001 年的 400 亿元,居亚洲第二位。壳寡糖作为一种性能优异的日化基础原料市场前景广阔。

### 3.2 生物医药领域

壳寡糖在生物医药方面的重要用途之一是利用其抑制肿瘤作用来制备抗癌制剂。壳寡糖特别是低聚 6~8 糖,可通过活化人体中的淋巴细胞,抑制癌细胞的增殖和扩散来达到抗癌作用。癌细胞的形成伴随大量癌毒素的释放。此毒素会降低人体中的铁质,使人贫血、食欲减退,而壳寡糖在人体肠内形成的小分子基团容易被肠所吸收,从而抑制癌毒素在体内的释放。同时壳寡糖作为一种良好的聚电解质,能被吸附在血管壁细胞的表面,从而可抑制癌细胞的转移。

目前,关于甲壳质和壳聚糖在调血脂、降胆固醇方面的功能已陆续有所报道。由于这些多糖无毒、不产生变态反应,及对机体非常温和的免疫刺激影响,使其在作为调血脂、降胆固醇药物方面具有优势。浙江省温岭市已用壳聚糖的系列产品开发了康达舒降血脂片。尽管壳寡糖在这些功能方面尚未见报道,但由于是壳聚糖的降解产物,许多性质相似,因此也极有可能存在此功能<sup>[19]</sup>。

中国产业发展研究中心统计,美国作为国际生物制药的发源地,无论是在经费投入、产品研发还是生产上都处于国际领先水平,所开发的生物医药产品占全球的 90% 以上。美国 FDA 批准的包括壳寡糖在内的生物药物已达 100 余个。

我国对生物医药产品亦非常重视,将生物制药技术列为重点发展的高新技术产业,2005 年我国医药生物技术工业总产值将达到 400 亿~500 亿元,到 2015 年总产值可达 1 100 亿~1 300 亿元。科技部将“壳寡糖新产品的开发应用”列为国家“十五”攻关计划,要求建立数条年产 500 吨以上的壳寡糖生产线,满足国内市场需求。壳寡糖作为一个具有一定前瞻性的医药新产品,国内外市场前景广阔。

### 3.3 保健食品领域

壳寡糖作为自然界中唯一的碱性多糖,生物活性高,无毒、无副作用,可被人体快速吸收。以壳寡糖为主要原料生产的保健食品能够提高机体的免疫力,活化细胞,促进肠道双歧杆菌等有益菌的增生,并抑制有毒菌的生成。目前壳寡糖的主要消费地在日、韩、美、法、俄等国家。韩国于 1996 年即批准壳寡糖为功能性保健食品,我国现在已有“海赋健”、“鲟之宝”等年需求壳寡糖 240 吨的保健食品生产厂家,珠海华辰等医药保健品公司正在申报壳寡糖保健食品的批准文号,预计年需求量将以高于 30% 的速度递增。

### 3.4 农林畜牧领域

因长期使用化学农药,病虫害的抗药性越来越强,传统农药的用量越来越大,对生态环境保护和资源的可持续开发与利用造成较大负面影响。壳寡糖具有良好的抗病虫害功能,且有安全、微量、高效、成本低等优势,可使水果、蔬菜、粮食增产 10%~30%,因而可以应用于生物农药产品,部分替代化学农药。目前我国农业病虫害共 2 000 余种,受灾面积数 10 亿亩。因此壳寡糖在农林畜牧上的应用对我国的农业可持续发展具有重要意义,以壳寡糖为基础的生物农药将有广阔的发展空间。

## 4 展望

开发应用壳寡糖是甲壳质行业的制高点,也是当今生物制药技术的一个亮点。目前壳寡糖产品的年需求量在 6 000 吨以上,其科研开发主要集中在日本、韩国等国家。20 世纪 90 年代末,酶法生产壳寡糖在日本、韩国实现了产业化。我国对该产品的研究起步较晚,近年来趋于活跃,作了大量的工作。2002 年 8 月,山东济南海得贝公司利用复合酶法制备壳寡糖的生产线正式投产,壳寡糖在我国第一次实现了产业化生产。方兴未艾的壳寡糖产业将加快中国生物技术发展的步伐。

### 参考文献:

[1] 张虎,杜昱光,虞星炬. 几丁聚糖和壳寡糖的制备和功能[J]. 中国生化药物杂志,1999,20(2):99-101.  
 [2] 卢凤琦,曹宗顺,王春香,等. 低分子量壳聚糖的研制[J]. 中国生化药物杂志,1997,18(4):178-180.  
 [3] 邵健,杨宇民. 低聚氨基葡萄糖的研制[J]. 中国医药工业杂志,

1999,30(11):481-483.

[4] 李邦良,高仕瑛,乔新惠,等. 甲壳低聚糖的制备和分析[J]. 中国生化药物杂志,1999,20(6):292-294.  
 [5] 李继珩,马玉,吴剑平,等. 壳寡糖的制备研究[A]. 2002 年全国生物资源与生物技术药物学术研讨会论文集[C]. 北京:中国药学会,2002. 124-127.  
 [6] 丁盈红,李若琦,伍银贤,等. 微波辐射快速制备水溶性壳聚糖[J]. 中国生化药物杂志,2002,23(3):132-133.  
 [7] Kubota N, Tatsumoyo N, Sano T, *et al.* A simple preparation of half N acetylated chitosan highly soluble in water and aqueous organic solvents[J]. Carbohydr Res, 2000,324(4):268-274.  
 [8] Zhang H, Du Y, Yu X, *et al.* Preparation of chitooligosaccharides from chitosan by a complex enzyme[J]. Carbohydr Res, 1999,320(3-4):257-260.  
 [9] 杜昱光,张铭俊,张虎,等. 海洋寡糖工程药物——壳寡糖制备分离新工艺及其抗癌活性研究[J]. 中国微生物学杂志,2001,13(1):5-7.  
 [10] Kim SK, Park PJ, Yang HP, *et al.* Subacute toxicity of chitosan oligosaccharide in Sprague Dawley rats[J]. Arzneimittelforsch, 2001,51(9):769-774.  
 [11] 夏文水,吴焱楠. 甲壳低聚糖功能性质[J]. 无锡轻工大学学报,1996,15(4):291F-2916.  
 [12] Shin Y, Yoo DI, Min K. Antimicrobial finishing of polypropylene nonwoven fabric by treatment with chitosan oligomer[J]. J Appl Polym Sci,1999,74:291F-2916.  
 [13] Choi BK, Kim KY, Yoo YJ, *et al.* In vitro antimicrobial activity of chitooligosaccharide mixture against Actinobacillus actinomycetemcomitans and Streptococcus mutans[J]. Int J Antimicrob Agents, 2001,18(6):553-557.  
 [14] Ouchi T, Banba T, Matsumoto T, *et al.* Synthesis and antitumor activity of conjugates of 5 fluorouracil and chito oligosaccharides involving a hexamethylene spacer group and carbamoyl bonds[J]. Drug Des Deliv, 1990,6(4):287-287.  
 [15] 刘莹,柳红. 壳寡糖对人结肠癌 LoVo 细胞株生长的影响[J]. 徐州医学院学报,2002,22(2):148-151.  
 [16] 杜昱光,白雪芳,金宗濂,等. 壳寡糖抑制肿瘤作用的研究[J]. 中国海洋药物,2002,21(2):18-21.  
 [17] Albersheim P, Valent BS. Host-pathogen interactions in plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics[J]. J Cell Biol, 1978,78:627-643.  
 [18] 李曙光,白雪芳,杜昱光. 壳寡糖的分离分析及其诱抗活性研究[A]. 辽宁甲壳质研究开发与应用研讨会论文集[C]. 沈阳:辽宁省老教授协会甲壳质研究会,2002. 277-280.  
 [19] 竺国芳,赵鲁杭. 几丁寡糖和壳寡糖的研究进展[J]. 中国海洋药物,2000,19(3):43-46.

欢迎订阅

欢迎投稿