

甲壳素及其衍生物壳聚糖的药理作用和临床应用研究进展

倪天庆, 胡思源*

天津中医药大学第一附属医院, 天津 300193

摘要: 甲壳素及其衍生物壳聚糖是一种用途很广的天然高分子化合物, 具有无毒、生物相容性好、吸附功能强、生物可降解等优异性能。随着对新材料的研究开发, 甲壳素和壳聚糖在医药和卫生材料方面的研究成果已得到实际应用, 甚至已工业化生产。综述了甲壳素和壳聚糖抗菌、止血、促愈合、提高免疫的药理作用及其在医用敷料方面的应用。

关键词: 甲壳素; 壳聚糖; 抗菌; 止血; 促愈合; 提高免疫; 敷料

中图分类号: R282.71; R285.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674 - 5515(2012)03 - 0313 - 04

Research of pharmacologic action and clinical application of chitin and its derivative chitosan

NI Tian-qing, HU Si-yuan

First Teaching Hospital of Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China

Abstract: Chitin and its derivative chitosan are very versatile natural macromolecular polymer, with good properties such as nontoxicity, good biocompatibility, strong absorption, and biodegradation. Along with the development of new materials, the research achievement of chitin and chitosan in medical and hygiene material region have been put into practical application, or achieved industrial production. This paper reviewed pharmacologic action of chitin and chitosan in antibacterial, hemostasis, promoting agglutination and elevating immunity, and it's application in medical excipient.

Key words: chitin; chitosan; antibacterial; hemostasis; promoting agglutination; elevating immunity; excipient

甲壳素又名甲壳质、几丁质、壳多糖、蟹壳素和聚乙酰氨基葡萄糖等, 最早由法国科学家 Braconnot 于 1811 年在研究蘑菇时, 从霉菌中发现。甲壳素为一种蕴藏于甲壳类动物和微生物体内的氨基多糖, 是带有正电荷的天然高分子聚合物, 大量存在于海洋节肢动物甲壳之中, 也存在于菌类、昆虫类等生物中, 是地球上仅次于纤维素的第二大可再生资源^[1-2]。

壳聚糖是甲壳素脱乙酰化后得到的产物, 含有游离氨基, 是天然多糖中唯一的碱性多糖, 其物理化学性质均较稳定。甲壳素及其衍生物壳聚糖具有很好的生物相容性和可降解性, 同时具有胶原质和植物纤维的功能, 基本无抗原和致敏性, 无不良反应, 其成膜性、黏滞性良好, 这些特性使得甲壳素与其衍生物壳聚糖在医用敷料方面得到了广泛的应用^[3]。

1 药理作用

1.1 抗菌抗感染

甲壳素与壳聚糖具有广谱的抗菌活性, 其对革兰阳性菌、阴性菌及霉菌等都具有杀灭作用。秦岩等^[4]采用倍比稀释法, 观察了用天然生物材料海洋生物壳聚糖海绵体制成的止血海绵对临床分离的 4 种致病菌的体外抗菌情况, 结果显示, 壳聚糖海绵对金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、白色念珠球菌、梭状芽胞杆菌均具有较强的抗菌活性。应月青等^[5]采用振荡法, 对 1 000、800、700 g/L 壳聚糖处理的无纺布抗菌性能进行了测定, 结果 3 种质量浓度的壳聚糖无纺布对金黄色葡萄球菌平均抑菌率为 99.75%, 对白色念珠菌平均抑菌率为 81.63%, 对大肠杆菌基本没有抗菌作用, 且 3 种质量浓度间无差异。壳聚糖对革兰阳性菌的抑制作用强于对革兰阴性菌, 同时抑菌能力随其质量浓度升高而增强, 且

收稿日期: 2011-12-29

作者简介: 倪天庆 (1978—), 男, 硕士, 主要从事新药的临床研究及评价。Tel (022) 27432718 E-mail: ntq009@163.com

*通讯作者 胡思源 (1963—), 男, 教授, 主要从事新药的临床研究及评价。E-mail: hsy008@163.com

壳聚糖抑菌作用与其乙酰化程度及相对分子质量相关。壳聚糖对蜡芽孢杆菌的抑制试验表明,低乙酰化程度的壳聚糖要比高乙酰化程度的壳聚糖抑菌作用强,而高相对分子质量(9.83×10^4)和中相对分子质量(5.68×10^4)的壳聚糖其抑菌作用要强于低相对分子质量(1.06×10^4)的壳聚糖^[6]。壳聚糖抑制细菌的原理可能是其正电荷与微生物细胞膜表面的负电荷产生缔合,改变了微生物细胞膜的通透性,从而引起微生物细胞死亡^[7]。

1.2 止血作用

壳聚糖是自然界中唯一含有氨基的阳离子多糖,能吸引带负电荷的血小板和红细胞。由于氨基的亲水性,能够增加纤维蛋白原的吸附数量,从而可以增加血小板的聚集,激活凝血系统促进血栓形成。尹刚等^[8]取 24 只 SD 大鼠,制备肝中叶切除出血模型,根据切口使用止血材料不同随机分组,分别记录出血时间及出血量,并采用 Lee 等方法进行体外促凝血实验记录凝血时间。结果云南白药组,出血时间为(292 ± 31) s,出血量为(1.63 ± 0.21) g,凝血时间为(653 ± 41) s;新型壳聚糖止血粉,出血时间为(224 ± 28) s,出血量为(1.18 ± 0.17) g,凝血时间(202 ± 11) s,差异均有统计学意义($P < 0.05$),由此可见,壳聚糖止血粉具有良好的止血作用。Shikani 等^[9]采用壳聚糖贴膜治疗顽固性鼻衄,19 例患者的止血时间为(3.6 ± 2.2) min,48 h 除去贴膜,无再出血现象发生。刘亚平等^[10]采用壳聚糖为主要材料与海藻酸钠通过乳化交联工艺,制成一种结构疏松的微球。以云南白药为对照,在 6 只新西兰兔的脾出血模型上观察其止血效果,结果微球组的出血时间为(2.83 ± 0.17) min,云南白药组为(5.33 ± 0.49) min,微球组的止血效果明显优于云南白药组($P < 0.01$),由此可见,采用壳聚糖与海藻酸制备的微球止血性能良好,使用方便,是一种新型的粉体止血剂。

1.3 促进皮肤组织修复和伤口愈合

壳聚糖具有促进上皮细胞再生和促进伤口愈合的作用,其可通过促进纤维细胞迁移、扩增来缩短伤口愈合时间。Tchemtchoua 等^[11]制备了三维壳聚糖微纤维支架,体外实验证明其能促进细胞黏附与扩增,将支架植入小鼠体内,发现壳聚糖微纤维可定植于间叶细胞及血管内皮细胞,且能观察到胶原蛋白聚集。将其用于小鼠伤口,发现壳聚糖可促进上皮细胞和真皮细胞的快速更新。国外学者先造成

鼠背局部皮肤的全层缺损,然后填入壳聚糖溶液,并用紫外线照射,结果显示壳聚糖可以使伤口明显缩小,并加速了伤口的封闭和愈合,组织学检测伤口处出现肉芽组织,同时有上皮形成^[12]。

1.4 增强机体免疫

壳聚糖具有较强的促进体液免疫和细胞免疫作用,对白细胞和巨噬细胞均有趋化作用,可增强巨噬细胞的吞噬功能和水解活性,刺激淋巴因子和炎性介质的产生,Guzmán-Morales 等^[13]研究发现壳聚糖可刺激巨噬细胞产生单核细胞炎性蛋白 $1\alpha/\beta$ 、粒-巨噬细胞集落刺激因子及 IL-1 β 等多种细胞因子。同时,壳聚糖作为载体还可增强免疫作用,Zhao 等^[14]给小鼠注入以壳聚糖微颗粒为载体的 pTp92 DNA 疫苗,并以普通载体疫苗为对照,结果发现壳聚糖载体疫苗小鼠体内的抗 pTp92 抗体含量更高,细胞扩增现象更强($P < 0.05$)。

2 安全性考察

甲壳质及其衍生物是使用安全的活性生物多糖,具有对人体无毒、无刺激、无过敏原、不溶血、相容性好等特性^[15]。程东等^[16]给 20 只小鼠 ig 10.0 g/kg 壳聚糖,14 d 未见小鼠死亡;取断乳大鼠体质量 60~80 g,连续给药(0.75、1.5、3 g/kg) 30 d,第 30 天空腹过夜,第 31 天处死动物,进行血液学和血液生化学检查,组织病理学检查以及脏器系数测定,结果各项观察指标未见毒性作用;采用间隔 24 h 两次 ig (2.5、5、10 g/kg) 给予受试动物,第二次 ig 后 6 h 处死动物,取胸骨骨髓制片,甲醛固定,Giemsa 染色,镜下每只动物计数 1 000 个嗜多染红细胞中的微核细胞数,并设蒸馏水阴性对照组和环磷酰胺阳性对照组,结果壳聚糖各剂量组微核率与阴性对照组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),而环磷酰胺阳性对照组与阴性组之间差异有统计学意义($P < 0.01$),表明壳聚糖在最高剂量 10 g/kg 未见有诱发小鼠髓微核细胞率增高的作用;在小鼠精子致畸实验中,雄性昆明种小鼠 ig (2.5、5、10 g/kg) 给予受试物,连续 5 d,至第 35 天处死动物,取两侧附睾常规制片,甲醛固定,伊红染色,每只动物计数 1 000 个结构完整的精子,记录畸变类型和数量,计算精子畸形率,并设蒸馏水阴性对照组和环磷酰胺阳性对照组,结果受试物各剂量组与阴性对照组无差异($P > 0.05$),而环磷酰胺阳性对照组与阴性组之间差异有统计学意义($P < 0.01$),表明壳聚糖对小鼠精子无致畸作用。Pokharkar 等^[17]

观察壳聚糖给予动物后产生的急性毒性反应, 结果其最大耐受剂量相当于推荐临床试用剂量的几百倍, 观察 14 d 均未见小鼠和大鼠死亡。覃容贵等^[18]将蝇蛆壳聚糖以最大浓度及最大给药体积连续 ig 给药 3 次及 ip 给药 1 次, 连续观察 14 d, 记录小鼠不良反应情况, 结果 ig 给药全部动物健存, 未见任何不良反应。计算蝇蛆壳聚糖最大给药量为 2 700 mg/kg, 相当于成人用量的 67.5 倍, ip 给药亦未见任何毒性反应, 由此可见, 蝇蛆壳聚糖的毒性较小。

3 在医用敷料中的应用

甲壳素与壳聚糖制成的医用敷料如壳聚糖无纺布、绷带、纱布、止血棉、药膜等, 该类敷料可以减轻伤口疼痛、止血, 同时能促进伤口愈合, 具有极好的透气透水胜, 并能通过体内酶自然降解, 被广泛用于临床^[19]。

3.1 治疗外伤、创伤

Francesko^[20]制备了壳聚糖共混海绵状伤口敷料, 该敷料柔软具有弹性, 且亲和性好, 动物实验表明无毒性反应, 能有效的吸收渗出物, 提高胶原的增生能力, 促进成纤维细胞的增殖和血管的生长。Li 等^[21]研制了一种海绵状不对称壳聚糖膜, 该膜能有效控制伤口处水分蒸发, 有很好的透气性并能阻止微生物的侵入, 并能迅速控制伤口流血、加速伤口愈合。Aleksieva 等^[22]研制了一种伤口敷料, 是由凝胶状的壳聚糖及衍生物等支持层和含有高弹性的控制层构成, 具有止疼和抗感染作用。

3.2 止血材料

Millner 等^[23]研究了甲壳素冻干聚合物为基质的绷带和军用止血绷带在控制大动脉急性出血中的治疗情况, 结果甲壳素绷带组的存活率为 80%, 军用止血绷带组的存活率为 40%, 且使用甲壳素绷带比军用绷带止血前流血量减少数百毫升。有研究表明, 在严重战伤流血中, 包括胸部、腹部和颈部等部位, 壳聚糖基质止血敷料的成功率超过 90%, 止血敷料中为质子化壳聚糖, 且具有很好的黏附能力^[24]。杨剑等^[25]选择先天性心脏病住院行室间隔缺损、动脉导管未闭介入治疗手术患者 100 例, 随机分为两组, 壳聚糖组应用壳聚糖止血敷料止血, 对照组则采用传统人工压迫方法止血, 结果壳聚糖组止血成功率 100%, 对照组止血成功率 86%; 壳聚糖组平均止血操作 (9.5 ± 6.2) min, 制动时间 (10.2 ± 4.6) h, 明显少于对照组 (18.4 ± 5.1) min,

(24.7 ± 5.8) h, 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3.3 治疗烧伤、烫伤

Alsarra^[26]采用水蒸气灼伤烫伤法制备动物深二度烫伤模型, 观察小鼠背部烫伤创面愈合情况, 并以 Fucidin 软膏为对照。结果壳聚糖治疗组的伤口收缩率、上皮再生能力及创面愈合速度均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。另外壳聚糖可用于烧伤, 促进伤口愈合, 且可作为缓释药物的载体, 将药物运送到伤口处。Simsek 等^[27]将含有单核 - 巨噬细胞集落刺激因子缓释剂的壳聚糖凝胶用于烧伤小鼠, 结果发现其具有很好的促进伤口愈合及抗炎作用。

3.4 治疗溃疡、压疮

Park 等^[28]在大鼠背部制备皮肤溃疡模型, 以治疗后不同时间的各组溃疡面积、溃疡容积和组织病理学检查为指标, 观察壳聚糖膜外贴对溃疡愈合的影响。结果显示, 壳聚糖膜剂外贴使溃疡面积和容积缩小的速度及表皮完全覆盖率均明显高于对照组。以压疮患者二期创面作为观察对象, 以生理盐水清洁创面, 发泡处以无菌注射器吸出泡液并保持创面干燥, 同时对患者进行定时翻身避免压疮受压。将壳聚糖敷料均匀涂抹于创面, 对照组外涂碘伏, 每日 2 次, 结果表明壳聚糖敷料组创面平均愈合天数明显短于对照组^[29]。

4 结语

甲壳素及其衍生物壳聚糖具有资源丰富、天然无污染、安全无毒及生物相容性等特点, 因此被认为是一类具有独特生物活性的高分子化合物, 是近年来颇受重视的医用材料, 有巨大的潜在市场。但由于国内研究开发比较松散、欠系统化及转化周期长、生产规模小等因素, 直接影响了这一产业的形成, 若能加大投入力度进行更深层次的开发研究应用, 开展国际间的合作, 必将使该天然高分子生物材料的研究开发产生巨大的经济效益和社会效益, 相信这种再生资源的利用价值会越来越大。

参考文献:

- [1] Smirnou D, Krcmar M, Prochazkova E. Chitin-glucan complex production by schizophyllum commune submerged cultivation [J]. *Pol J Microbiol*, 2011, 60(3): 223-228.
- [2] 孙玉斌, 李慧林. 甲壳素对大鼠实验性胃溃疡的作用 [J]. *中草药*, 1993, 24(6): 309-310.
- [3] 周闻舞, 顾海铮. 壳聚糖微/纳米粒在定向给药系统中

- 的应用研究 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(4): 290-295.
- [4] 秦 岩, 杜平华, 曾瑞祥. 可吸收壳聚糖海绵体外抗菌活性的研究 [J]. 中国海洋药物, 2010, 29(4): 66-67.
- [5] 应月青, 王宏镭. 壳聚糖整理无纺布抗菌效果的试验观察 [J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(4): 390-394.
- [6] Mellegård H, From C, Christensen B E, *et al.* Inhibition of bacillus cereus spore outgrowth and multiplication by chitosan [J]. *Int J Food Microbiol*, 2011, 149(3): 218-225.
- [7] Wang L, Liu F, Jiang Y F, *et al.* Synergistic antimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(23): 12411-12419.
- [8] 尹 刚, 侯春林, 刘万顺, 等. 新型壳聚糖止血粉止血作用的实验研究 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2009, 23(11): 1347-1349.
- [9] Shikani A H, Chahine K A, Alqudah M A. Endoscopically guided chitosan nasal packing for intractable epistaxis [J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(1): 61-63.
- [10] 刘亚平, 侯春林, 顾其胜, 等. 可生物降解止血粉的制备及其止血性能 [J]. 中国修复重建外科杂志, 2007, 21(8): 829-832.
- [11] Tchemtchoua V T, Atanasova G, Aqil A, *et al.* Development of a chitosan nanofibrillar scaffold for skin repair and regeneration. [J]. *Biomacromolecules* 2011, 12(9): 3194-3204.
- [12] Hsu S H, Chang Y B, Tsai C L, *et al.* Characterization and biocompatibility of chitosan nanocomposites [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2011, 85(2): 198-206.
- [13] Guzmán-Morales J, Ariganello M B, Hammami I, *et al.* Biodegradable chitosan particles induce chemokine release and negligible arginase-1 activity compared to IL-4 in murine bone marrow-derived macrophages [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 405(4): 538-544.
- [14] Zhao F, Wu Y, Zhang X, *et al.* Enhanced immune response and protective efficacy of a treponema pallidum Tp92 DNA vaccine vectored by chitosan nanoparticles and adjuvanted with IL-2 [J]. *Hum Vaccin*, 2011, 7(10): 1083-1089.
- [15] Waibel K H, Haney B, Moore M, *et al.* Safety of chitosan bandages in shellfish allergic patients [J]. *Mil Med*, 2011, 176(10): 1153-1156.
- [16] 程 东, 韩晓英, 冯 宁, 等. 壳聚糖的毒性研究 [J]. 现代预防医学, 2006, 33(2): 162-164.
- [17] Pokharkar V, Dhar S, Bhumkar D, *et al.* Acute and subacute toxicity studies of chitosan reduced gold nanoparticles: a novel carrier for therapeutic agents [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2009, 5(3): 233-239.
- [18] 覃容贵, 吴建伟, 国 果, 等. 蝇蛆壳聚糖急性毒性实验 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(3): 555-556.
- [19] Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh Kumar P T, *et al.* Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications [J]. *Biotechnol Adv*, 2011, 29(3): 322-337.
- [20] Francesko A, Tzanov T. Chitin, chitosan and derivatives for wound healing and tissue engineering [J]. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2011, 125: 1-27.
- [21] Li D H, Diao J L, Zhang J T, *et al.* Fabrication of new chitosan-based composite sponge containing silver nanoparticles and its antibacterial properties for wound dressing [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2011, 11(6): 4733-4738.
- [22] Alekseeva T P, Rakhmetova A A, Bogoslovskaja O A, *et al.* Wound healing potential of chitosan and its N-sulfosuccinoyl derivatives [J]. *Izv Akad Nauk SSSR Biol*, 2010, (4): 403-410.
- [23] Millner R, Lockhart A S, Marr R. Chitosan arrests bleeding in major hepatic injuries with clotting dysfunction: an *in vivo* experimental study in a model of hepatic injury in the presence of moderate systemic heparinisation [J]. *Ann R Coll Surg Engl*, 2010, 92(7): 559-561.
- [24] Fu D, Han B, Dong W, *et al.* Effects of carboxymethyl chitosan on the blood system of rats [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 408(1): 110-114.
- [25] 杨 剑, 杨丽芳, 杨秀玲, 等. 壳聚糖止血敷料用于经股动脉穿刺先天性心脏病介入治疗压迫止血的临床观察 [J]. 中国心血管杂志, 2010, 15(6): 457-459.
- [26] Alsarra I A. Chitosan topical gel formulation in the management of burn wounds [J]. *Int J Biol Macromol*, 2009, 45(1): 16-21.
- [27] Simsek S, Canter H I, Konas E, *et al.* A new concept in treatment of burn injury: controlled slow-release granulocyte-monocyte colony-stimulating factor chitosan gel system [J]. *Ann Plast Surg*, 2011, 67(6): 583-588.
- [28] Park C J, Clark S G, Lichtensteiger C A, *et al.* Accelerated wound closure of pressure ulcers in aged mice by chitosan scaffolds with and without bFGF [J]. *Acta Biomater*, 2009, 5(6): 1926-1936.
- [29] Wiśniewska-Wrona M, Kucharska M, Niekraszewicz A, *et al.* Chitosan-alginate biocomposites in the form of films used in bedsores treatment [J]. *Polim Med*, 2010, 40(2): 57-64.