

壳聚糖及其衍生物用于降血糖的 最新研究进展

来水利, 韩武军, 王克玲, 袁 丹

(陕西科技大学教育部轻工助剂化学与技术重点实验室, 陕西西安 710021)

摘 要 壳聚糖是甲壳质的脱乙酰基产物, 分子中含有多个氨基和羟基等活性基团, 经化学修饰得到的衍生物具有诸多新的性能。壳聚糖及其衍生物不但本身具有降血糖的生物活性, 而且可以作为胰岛素基因载体制成治疗胰岛素依赖型糖尿病的生物药物, 也可用于制备胰岛素口服制剂, 如壳聚糖胰岛素脂质体、壳聚糖胰岛素纳米粒、壳聚糖胰岛素微球、微囊等, 从而延长胰岛素药物的作用时间, 达到缓释控释的目的。壳聚糖还可用于胰岛素直肠粘膜、鼻腔粘膜、舌下粘膜吸收的促进剂, 改变胰岛素的吸收途径, 有效防止了胰岛素在胃肠道的降解。

关键词 壳聚糖, 降血糖, 胰岛素基因, 口服制剂, 食品添加剂

Research progress in chitosan and its derivatives used to lower blood sugar

LAI Shui-li, HAN Wu-jun, WANG Ke-ling, YUAN Dan

(Key Laboratory of Additives Chemistry & Technology for Light Chemical Industry, Ministry of Education,
Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract Chitosan is obtained by deacetylation of chitin and possesses potentially reactive hydroxy and amino functional groups. Its derivatives, produced by chemical modification, own a lot of new properties. Chitosan and its derivatives not only have their own hypoglycemic biological activity, but also can be used as gene vector and made into biological medicine to care insulin-dependent diabetes mellitus, and for the oral preparations, such as chitosan-coated insulin liposomes, nanometer grains, microspheres, so as to prolong its action time by sustained insulin release. Chitosan can be used to change the way of insulin absorption to effectively prevent the degradation of the gastrointestinal tract by enhancing rectal mucosa absorption, nasal mucosa absorption and sublingual mucosa absorption.

Key words chitosan; hypoglycemic; insulin gene; oral preparation; food additive

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)02-0369-04

壳聚糖是从食品加工业中废弃的各种甲壳中提取得到的天然高分子多糖。由于其特有的聚阳离子性、良好的成膜性、安全无毒性和多功能性, 已在农业、轻工业、医药、健康食品、医用功能材料、环保等领域得到了广泛的应用。这类多糖既可生物合成, 又可生物降解, 降解过程中产生的低分子寡聚糖在体内不积累, 与动物的器官组织及细胞有良好的生物相容性, 几乎没有免疫原性, 使其具有较好的生理活性。本文介绍了近年来壳聚糖及其衍生物在治疗糖尿病方面的作用, 其可作为糖尿病患者的治疗药

物或食品添加剂。

1 壳聚糖及其衍生物本身的降血糖性质

壳聚糖为葡萄糖胺的聚合物, 本身具有较强的降血糖功能。它被吸收后进入人体内, 能激活胰岛细胞, 促进胰岛素分泌, 使葡萄糖得到有效利用, 从而使血糖下降。壳聚糖可改善脂肪代谢, 有效减肥和中止恶性循环发展, 还可以刺激空腹血糖中枢副交感神经, 扩张末梢血管, 改善血流量, 使积累的 CO_2 得以排除, 酸性体液得以改善, 有利于糖尿病的康复。但由于其相对分子质量较高, 很难溶于水, 限制了其在降血糖方面的应用。而通过化学修饰、降解、氧化等方法可将壳聚糖制成低聚壳聚糖或其他水溶性壳聚糖, 易于人体吸收, 且不会改变其生物活性。低分子壳聚糖又称甲壳低聚糖或壳寡糖, 是由 2~20 个 2-氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖单体组成的一类低聚糖, 平均相对分子质量在 2000~10000 之间。甲壳

收稿日期: 2009-11-30

作者简介: 来水利 (1965-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 天然高分子材料。

基金项目: 陕西省咸阳市科技计划项目 (XK06012-8), 陕西科技大学研究生创新基金。

低聚糖具有调节免疫、抑制肿瘤生长、降低胆固醇、降血糖等生物活性^[1-2]。

魏涛^[3]等人对壳聚糖的降血脂、降血糖及增强免疫作用进行了初步研究。通过研究发现,由胰岛素分泌不足引起的糖尿病,其体液呈酸性,若 pH 下降 0.1,胰岛素的敏感度下降 30%,糖的利用度会降低。壳聚糖的降血糖作用在于能将 pH 调节到弱碱性,提高胰岛素利用率,有利于糖尿病的防治。壳聚糖在体内很容易被肠道菌群分泌的某些酶类水解成单糖或低聚糖,所以它的抗原性很弱或几乎没有,因而壳聚糖的免疫作用有可能通过低聚糖而完成。

孙萍^[4]等研究了水溶性壳聚糖的降血糖作用,结果表明,水溶性壳聚糖对小鼠有显著降低血糖、增加肝糖原作用,其作用有剂量效应,而对正常小鼠血糖无明显影响,说明水溶性壳聚糖不会影响正常的糖代谢。还提出水溶性壳聚糖降低血糖、增加肝糖原的作用可能与调节机体糖代谢、促进肝糖原合成、减少肝糖原分解有关。

2 壳聚糖及其衍生物用于胰岛素基因载体

随着分子生物学和细胞生物学的不断发展,人们开始从分子水平考虑利用基因工程再造分泌胰岛素的克隆细胞系来替代目前的胰岛素注射治疗,其主要策略是利用基因重组和转移技术使非胰岛 B 细胞获得胰岛素合成和分泌能力,通过内生胰岛素控制血糖水平。和其它一些多聚阳离子试剂一样,壳聚糖和 DNA 的相互作用是通过静电结合的,这种结合相当牢固,利用基因重组及转基因技术治疗糖尿病已成为糖尿病治疗最有前景的方案。基因治疗是在体外利用基因重组技术将编码胰岛素的基因克隆至某一种载体上(如质粒或病毒),然后将重组载体转染到来自糖尿病个体的非胰岛 T 细胞内,使重组载体整合到宿主细胞的染色体基因组并得到表达,分泌胰岛素,以控制血糖水平^[5]。在这方面的研究中,学者们大多采用壳聚糖转染法^[6]将重组的人胰岛素基因表达质粒转染成纤维细胞(NIH3T3),来研究胰岛素基因表达后的降血糖作用。

3 壳聚糖及其衍生物用于胰岛素口服制剂

胰岛素是胰岛素依赖型糖尿病人的首选药物和必用药物。由于胰岛素口服易被胃肠道的低 pH 和酶破坏,且它的小肠黏膜透过率低,故目前只有注射剂用于临床。由于胰岛素生物半衰期短,病人需频繁注射用药,给病人带来疼痛和不便,而且长期注射胰岛素还会出现浮肿,超剂量给药会引起低血糖休克等不良反应,因此研制开发非注射给药的缓释胰岛素制剂是近年来国内外研究的热点。壳聚糖及其衍生物作为胰岛素口服缓释载体的研究备受关注,这是因为壳聚糖是天然存在的唯一碱性多糖,是一种安全无毒的、可生物降解的天然高分子,不但具有生物相容性,而且具有抗菌、止血、抑制癌细胞转移等作用。

3.1 胰岛素脂质体

由于壳聚糖脂质体具有保护药物免受胃肠道蛋白酶的破坏,并促进药物在胃肠道中主动转运的作

用,其可作为胰岛素的载体以促进药物在胃肠道的吸收。因为壳聚糖通过 C 位上带正电荷的氨基与紧密结带负电荷位点的相互作用来消除紧密结的制约^[7],而让亲水性大分子通过细胞旁路转运^[8]。壳聚糖作为一种弱碱,需一定量的酸才能使壳聚糖的葡萄糖胺结构单元展开并转变为带正电荷的溶液状态。在中性 pH 下,壳聚糖分子将失去电荷并从溶液中沉淀出来,因而壳聚糖作为吸收促进剂的潜在用途在大肠、结肠和直肠等碱性环境中受到限制^[9]。而 N-三甲基壳聚糖盐酸盐的碱性较强,在中性 pH 下能有效地降低跨上皮细胞电阻,打开肠上皮细胞间紧密结,通过细胞旁路增加亲水性大分子的转运^[10-12]。

Agarwal V^[13]提出影响蛋白质药物口服生物利用度的两个主要因素为酶的降解和跨上皮细胞透过性。壳聚糖及其衍生物包被胰岛素脂质体可抑制肠道酶对胰岛素的降解,延长在肠道的滞留时间,打开肠道上皮细胞紧密结,从而可增加胰岛素经细胞旁路或 M 细胞途径的吸收,有利于提高口服胰岛素的生物利用度。吴正红^[14]利用分离肠黏膜法和 Caco-2 细胞模型考察了壳聚糖及其衍生物包被脂质体对胰岛素的吸收促进作用。壳聚糖及其衍生物包被脂质体时,由于细胞间紧密结被打开,更有利于促进胰岛素经细胞旁路跨肠膜转运,以壳聚糖和壳聚糖-EDTA 络合物双层包被胰岛素脂质体的促吸收效果最好,并且在降低 TEER 和增加细胞旁路的通透性具有可逆性。吴正红^[15]又利用在体肠灌流法对壳聚糖及其衍生物包被胰岛素脂质体在大鼠不同肠段的吸收情况进行了研究。实验表明壳聚糖-EDTA 络合物不仅有较好的酶抑制作用,而且还具有较好的吸收促进作用,同其他胰岛素脂质体相比,用壳聚糖和壳聚糖-EDTA 络合物双层包被的胰岛素脂质体既能促进胰岛素吸收,又能防止胰岛素降解,具有较好的降血糖效果。

3.2 胰岛素纳米粒

纳米粒作为药物载体的一种,体积小巧,能够在体内通过毛细血管,与生物膜的粘着性提高,因此有利于增加药物与肠壁的接触面积,延长接触时间,从而有利于吸收,提高口服药物的生物利用度。如果使用纳米粒作为蛋白多肽类药物的载体口服给药,药物可以包裹在颗粒内部以整体形式吸收,从而减少了消化道强酸、碱以及消化酶的降解破坏。由于壳聚糖是多糖类甲壳素的脱乙酰产物,具备了生物大分子给药载体的一些基本条件,而它所具有的生物可降解性、生物相容性、低毒性以及打开上皮细胞间紧密连接,促进大分子药物通过组织上皮的转运作用,使之成为自然界中不可多得的天然高分子载体材料。

王鑫^[16]使用壳聚糖-乙酰半胱氨酸偶合物为载体材料,三聚磷酸钠为离子交联剂,胰岛素为模型药物,采用离子交联的方法制得巯基化壳聚糖载胰岛素纳米粒子,并对其黏附性和溶胀性等进行了测试,同时对其体外释药性进行了研究。载胰岛素巯基壳聚糖纳米粒子的释放具有 pH 响应性。在酸性或中

碱性下能够快速释放,而在 $\text{pH} = 5.4$ (胰岛素等电点附近) 时,胰岛素释放极其缓慢。因此,壳聚糖纳米粒子作为给药载体能够显著地改善胰岛素的黏膜吸收,有很好的应用前景。

目前纳米药物的黏膜吸收研究仅限于少数纳米粒子的体系^[17],研究结果表明^[18],黏附性聚合物与被吸附组织的紧密接触可以提高大分子药物如蛋白质类和多肽类药物的透过性。壳聚糖是一种可降解的生物相容性材料,并能与黏膜蛋白形成氢键和静电作用,具有良好的生物黏附性能^[19],但这种基于非共价键的黏附作用并不能有效地克服体内的清除机制而保证药物在指定部位的持续释放^[20]。壳聚糖经疏基化后,黏附性能显著提高。Bernkop-Schnürch^[21]等报道了一种疏基壳聚糖,其黏附性比壳聚糖提高了140多倍。Krauland^[22]等报道一种疏基壳聚糖微球用于胰岛素的鼻腔黏膜给药,药物的有效吸收是壳聚糖微球的7倍,且对鼻腔无明显毒副作用。疏基壳聚糖通过与黏膜形成二硫键进一步延缓了药物在黏膜内的清除,提高了药物的黏膜吸收。因此,与壳聚糖纳米粒子相比,疏基壳聚糖纳米粒子应具有更强的黏附性能,有很好的应用前景。然而有关将疏基壳聚糖纳米粒子用于大分子药物的释放体系的研究至今尚未见报道。

3.3 胰岛素微囊和微球

通过微囊和微球的包封,可以避免或减少胃肠道酶对胰岛素的降解作用,利于药物的口服吸收。

杨利芳^[23]等采用静电液滴工艺制备载胰岛素壳聚糖-海藻酸钙微球,并研究了载胰岛素微球口服降血糖作用,结果显示微球平均粒径 $48\mu\text{m}$,药物包封94.1%,药物相对活性71.7%。降血糖作用缓慢有效,6~10h 相对血糖水平有显著性差异,药理相对生物利用度41.20%。口服小粒径微球的降血糖作用更显著,且高剂量载药微球的降血糖作用较显著。

用于胰岛素口服给药的剂型除了脂质体、纳米粒、微球和微囊外,还有乳剂、油性制剂、胶囊、片剂、高分子复合物或嵌合物等,但壳聚糖在这些方面的研究很少。

4 壳聚糖及其衍生物用于胰岛素黏膜吸收渗透促进剂

胰岛素通过黏膜给药可以避免胃肠道的酸碱环境和酶的降解、避免肝脏的首过效应。壳聚糖能够促进胰岛素的黏膜吸收,其有两种促进机制:其一为壳聚糖具有黏附性,能够延长药物与黏膜的接触时间和作用时间;其二为壳聚糖带正电的氨基($-\text{NH}_3^+$)和带负电的黏膜相互作用,使细胞的ZO-1蛋白减少,F-肌动蛋白结构发生改变,从而可以暂时打开细胞间的紧密连接,促进胰岛素穿过黏膜上皮。

4.1 直肠黏膜吸收促进剂

液体栓剂属于原位凝胶,在常温下为液体,有一定的胶凝温度,能在体温作用下在用药部位形成凝胶,有适宜的胶凝强度,给药后不易从肛门漏出,有合适的生物吸附力,不会移动到直肠深部,可避免药物首过效应。张洪^[24]、何文^[25]都研究了不同季铵

化度及不同浓度的N-三甲基壳聚糖对胰岛素液体栓剂体外性质的影响。结果表明不同季铵化程度及其不同浓度对液体栓剂的体外性质有着显著的影响,随着N-三甲基壳聚糖季铵化度和浓度的增加,对胰岛素的促进作用增强,所以可以通过使用不同季铵化程度的N-三甲基壳聚糖和改变其浓度来改善胰岛素液体栓剂的体外性质,可能会更有效地促进胰岛素的直肠吸收。

4.2 舌下黏膜吸收促进剂

胰岛素的相对分子质量约为5800,在不加其他任何辅料的情况下,胰岛素很难通过黏膜吸收。近年来的研究表明,壳聚糖可以促进多肽及蛋白类药物的吸收^[26-28],其广泛应用日益受到人们的重视。

4.3 鼻腔黏膜吸收促进剂

于少云^[29]等利用Caco-2细胞单层模型研究壳聚糖与羟丙- β -环糊精合用促进胰岛素鼻腔黏膜吸收,结果表明羟丙- β -环糊精可以增强壳聚糖促吸收作用,作者认为原因是当壳聚糖与Caco-2细胞接触时,可以打开细胞间的紧密连接,羟丙- β -环糊精插入细胞间隙中,使细胞膜表面的磷脂析出,细胞膜上的紧密连接蛋白被裸露出来甚至会崩溃,导致闭合的连接被打开,从而使细胞间的紧密连接进一步被打开,这样药物更容易穿过上皮细胞进入体内。此外,羟丙- β -环糊精还可以使胰岛素寡聚体解聚为二聚体和单聚体,同时羟丙- β -环糊精还能够抑制蛋白水解酶的活性。所以说羟丙- β -环糊精和壳聚糖合用有协同作用。

5 前景与展望

壳聚糖及其衍生物具有抗氧化、降血糖、抑制脂类吸收等生物活性,且安全性高,无不良作用,因此在防治糖尿病及其并发症方面显示了广阔的应用前景。由于壳聚糖及其衍生物是生物中惟一的动物性膳食纤维,在糖尿病的饮食治疗上更具有特殊的意义。值得注意的是,它们的结构中除了含有羟基外,还有活泼的氨基,易于化学改性,引入多功能基团及金属离子,这更加拓宽了其应用领域。随着壳聚糖及其衍生物在防治糖尿病方面研究的不断深入,它作为糖尿病患者的治疗药物、保健品或食品添加剂,必将得到越来越广泛的应用。

参考文献

- [1] Hayashi K, Ito M. Antidiabetic action of low molecular weight chitosan in genetically obese diabetic KK^{AY} mice [J]. Biol Pharm Bull, 2002, 25(2): 188-192.
- [2] Lee HW, Park YS. Antidiabetic effects of chitosan oligosaccharides in neonatal streptozotocin-induced noninsulin dependent diabetes mellitus in rats [J]. Biol Pharm Bull, 2003, 26(8): 1100-1103.
- [3] 魏涛, 糖粉芳. 壳聚糖降血脂、降血糖及增强免疫作用的研究 [J]. 食品科学, 2000, 21(4): 48-52.
- [4] 孙萍, 朱立华. 水溶性壳聚糖的降血糖作用研究 [J]. 山东医药, 2007, 47(10): 23-24.
- [5] Bailey CJ, Davies EL, Docherty K. Prospects for insulin

delivery, by ex-vivo somatic cell gene therapy [J]. Mol Med, 1999, 77: 244-249.

[6] Shuiying G, Jiangning C H. Galactoylated low molecular weight chitosan as DAN carrier hepatocyte-targeting [J]. Pharm, 2003, 255 (1): 57-63.

[7] Gumbiner B. Structure, biochemistry and assembly of epithelial tight junctions [J]. Am J Physiol, 1987, 253: C749-C755.

[8] Artursson P, Lindmark T. Effect of chitosan on the permeability of monolayers of intestinal epithelial cells (Caco-2) [J]. Pharm Res, 1994, 11 (9): 1358-1364.

[9] Kotze AF, Lueben HL. Comparison of the effect of different chitosan salts and N-trimethyl chitosan chloride on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco-2) [J]. J Controlled Release, 1998, 51: 35-43.

[10] Kotze AF, Thanou MM. Enhancement of paracellular drug transport with highly quaternized N-trimethyl chitosan chloride in neutral environments: in vitro evaluation in intestinal epithelial cells (Caco-2) [J]. J Pharm Sci, 1999, 88 (2): 253-259.

[11] Kotze AF, Lueben HL. N-trimethyl chitosan chloride as a potential absorption enhancer across mucosal surfaces: in vitro evaluation in intestinal epithelial cells (Caco-2) [J]. Pharm Res, 1997, 14 (9): 1197-1202.

[12] Thanou M, Florea BL. N-trimethyl chitosan chloride (TMC) improves the intestinal permeation of the peptide drug buserelin in vitro (Caco-2 cell) and in vivo (rats) [J]. Pharm Res, 2000, 17 (1): 27-32.

[13] Agarwal V, Nazzari S. Transport studies of insulin across rat jejunum in the presence of chicken and duck ovomucoids [J]. J Pharm Pharmacol, 2001, 53 (8): 1313-1318.

[14] 吴正红, 平其能. 壳聚糖及其衍生物包覆的脂质体对胰岛素细胞旁路转运的促进作用 [J]. 中国药科大学学报, 2005, 36 (4): 306-310.

[15] 吴正红, 平其能. 壳聚糖及其衍生物包覆脂质体对胰岛素肠道吸收的影响 [J]. 药学学报, 2005, 40 (7): 618-622.

[16] 王鑫, 母中明, 张新歌, 等. 壳聚糖/乙酰半胱氨酸纳米粒

子的性质及体外释药性 [J]. 高等学校化学学报, 2008, 29 (4): 851-857.

[17] Prego C, García M, Torres D, et al. Transmucosal macromolecular drug delivery [J]. Journal of Controlled Release, 2005, 101 (1-3): 151-162.

[18] Takeuchi H, Yamamoto H. Adv Drug Deliv Rev [J], 2001, 47: 39-54.

[19] Guan Xipeng, Quan Daping, Shuai Xintao, et al. Chitosan-graft-poly(α -caprolactone)s: An optimized chemical approach leading to controllable structure and enhanced properties [J]. J Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2007, 45 (12): 2556-2568.

[20] Bernkop Schnürch A. Thiomers: a new generation of mucoadhesive polymers [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57: 1569-1582.

[21] Bernkop Schnürch A, Hornof M, Guggi D. Thiolated chitosans [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2004, 57: 9-17.

[22] Krauland A H, Lettner V M, Grabovac V. J Pharm Sci [J], 2006, 95 (11): 2463-2472.

[23] 杨利芳, 薛伟明. 载胰岛素壳聚糖微球口服降血糖作用的研究 [J]. 化学工程, 2008, 36 (1): 71-74.

[24] 张洪, 代文兵. N-三甲基壳聚糖对胰岛素液体栓剂体外性质的影响 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41 (4): 281-284.

[25] 何文, 代文兵. N-三甲基壳聚糖对胰岛素液体栓剂体外性质的影响 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41 (16): 1240-1243.

[26] Yu SY, Zhao Y. Nasal insulin delivery in the chitosan solution: in vitro and in vivo studies [J]. Int J Pharm, 2004, 281 (1-2): 11-23.

[27] Illum L, Watts P. Novel chitosan based delivery system for the nasal administration of a LHRH-analogue [J]. STP Pharm Sci, 2004, 10 (1): 89-94.

[28] Thanou M, Verhoef JC. Chitosan and its derivatives as intestinal absorption enhancers [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2001, 50 (1): S91-S101.

[29] 于少云, 郑爱萍. 壳聚糖对胰岛素透过 Caco-2 细胞单层的影响 [J]. 中国新药杂志, 2006, 15 (6): 436-440.

(上接第 368 页)

performance of pigs days 0-21 postweaning [J]. J Anim Sci, 1998.

[22] 陈秀敏, 傅德贤, 欧阳帆. 魔芋葡甘聚糖寡糖铬(Ⅲ)络合物制备及其对小鼠血糖的影响 [J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24 (1): 1-3.

[23] 毛跟年, 张云丽, 张晓霞, 等. 甘露低聚糖铬(Ⅲ)配合物制备工艺的研究 [J]. 食品科技, 2009, 34 (2): 250-253.

[24] 毛跟年, 张云丽, 李静. 甘露低聚糖与铜(Ⅱ)配合物制备工艺的研究 [J]. 陕西科技大学学报, 2008, 26 (6): 88-91.

[25] Bannister WH, Bannister JV, Searle AJ, et al. The reaction of superoxide radicals with metal picolinate complexes [J]. Inorg Chem Acta, 1983, 78: 139-142.

[26] 毛跟年, 汤木红, 凌未霄, 等. 甘露低聚糖铁配合物的制备工艺研究 [J]. 食品科技, 2008 (6): 134-137.

[27] Ito M, Baba M, Sato A, et al. Inhibitory effect of dextran sulfate and heparin on the replication of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in vitro [J]. Antiviral Res, 1987, 7 (1): 361-367.

[28] 张迎庆, 干信, 邹群, 等. 魔芋葡甘低聚糖硫酸酯化衍生物的制备及结构分析 [J]. 药物生物技术, 2001, 8 (4): 200-203.

[29] 干信, 张迎庆. 魔芋葡甘低聚糖醛酸双酯钠的合成 [J]. 精细化工, 2002, 19 (2): 105-108.

[30] 李庆国, 干信. 双硫化魔芋寡糖素的合成 [J]. 化学与生物工程, 2008, 25 (10): 57-59.

[31] 孙春来, 干信. 魔芋寡糖 DS-VLK 杀菌剂的研制 [J]. 现代商贸工业, 2004 (4): 44-46.