

羧甲基壳聚糖的性能及其在生物医学领域的应用

赵丽瑞^{*1,2}, 孙多先¹, 刘满英²

(1 天津大学化工学院, 天津 300072;

2 河北医科大学基础医学院, 石家庄 050017)

摘要:羧甲基壳聚糖是一种具有多功能基的天然生物材料,在食品、化妆品、环保、印染、农业等领域均有广泛应用。其优良的性能,低廉的价格,使得它在生物医学领域有巨大的应用潜力。本文综述了羧甲基壳聚糖的水溶性、成膜性、降解性、抗菌性及生物学特性,并对其在烧伤敷料、抗术后粘连材料、药物载体、酶抑制剂等生物医学领域应用的研究进展进行了综述,并指出今后可能的重点研究方向。

关键词:壳聚糖;羧甲基壳聚糖;生物医学材料毛细管电泳;蛋白质分离;吸附;聚合物涂层

壳聚糖是甲壳素经化学处理脱乙酰基后的产物,是一种天然的阳离子生物聚合物。壳聚糖无毒、易于生物降解,无环境污染,具有广泛的用途^[1]。但由于壳聚糖只能溶于 pH 值小于 6 的弱酸性溶液中,限制了其在生物医学领域的应用。壳聚糖分子链节上的—OH 基和—NH₂ 具有较强的反应活性,可被多种取代基取代形成壳聚糖的衍生物,其中羧甲基壳聚糖是研究较早也是研究较多的一种。

1 羧甲基壳聚糖的性能

羧甲基壳聚糖是 *N*-羧甲基壳聚糖、*O*-羧甲基壳聚糖、*N, O*-羧甲基壳聚糖的总称,对其在生物医学领域应用产生影响的性能为:

1.1 水溶性

壳聚糖只能溶于弱酸性溶液中,因此其应用受到一定限制。而羧甲基壳聚糖水溶性大大增强,取代度大于 0.6 的羧甲基壳聚糖易溶于水^[2],随着取代度的提高,其水溶性愈好。一般情况下 *N, O*-羧甲基壳聚糖除在 pH=2~6 的范围内不溶外,其它 pH 条件下均可溶解。*O*-羧甲基壳聚糖的溶解性能与制备条件密切相关,在 0~20℃ 由壳聚糖与氯乙酸作用制备的羧甲基壳聚糖在所有 pH 范围内都是可溶的,而反应温度高于 20℃ 后制备的羧甲基壳聚糖,在 pH 为 7 左右时出现不溶区^[3]; *N*-羧甲基壳聚糖在所有 pH 范围内都是可溶的。

1.2 成膜性

羧甲基壳聚糖有较好的成膜性,Zhang 等^[4]制备了 *O*-羧甲基壳聚糖/海藻酸共混膜,由于 *O*-羧甲基壳聚糖中的—NH₃⁺ 与海藻酸中的—COOH 基团之间强静电力的作用,共混膜的膜强度及热性能均优于海藻酸及海藻酸/纤维素共混膜。

1.3 降解性

壳聚糖作为组织工程材料应用广泛,但高脱乙酰度的壳聚糖在无孔膜内降解缓慢^[5],羧甲基壳聚糖克服了不足,王峰等^[6]采用快速冷冻干燥法制备了羧甲基壳聚糖膜并将其植入兔背部肌肉,结果显示,羧甲基壳聚糖膜在前 4 周保持完整,16 周后完全降解,而且随着膜的降解,炎症反应逐渐减轻,周围组织无不良反应,陈浩凡等^[7]研究了不同取代度羧甲基壳聚糖体外酶降解的速度,与壳聚糖相比不同取代度羧甲基壳聚糖均有更好的生物降解性且随取代度提高,生物降解速率加快。

基金项目:河北省卫生厅资助项目(02055);

* 赵丽瑞:(1964—) 副教授,在读博士,从事医用友好材料的研究工作, E-mail: zhao-ly2000@hotmail.com; Tel: 0311—86265593.

1.4 抗菌性

羧甲基壳聚糖对金黄色葡萄球菌^[8,9]、口腔链球菌、口腔乳酸杆菌^[10]、埃希氏菌、大肠杆菌^[11~13]等都具有抗菌性。对口腔链球菌,0.35%的羧甲基壳聚糖溶液与100U/mL的庆大霉素抗菌效果相同,0.2%的羧甲基壳聚糖溶液与50U/mL的庆大霉素相当。PVA-羧甲基壳聚糖混合凝胶中羧甲基壳聚糖的含量为3%时对大肠杆菌抗菌作用非常显著。羧甲基壳聚糖的抗菌性与其分子量和取代度有关,羧甲基壳聚糖的分子量越低其抑菌作用越强。当取代度在0.3~0.6范围内,O-羧甲基壳聚糖的抗菌效果最好,原因是一COOH的引入使得更多的一NH₂化成一NH₃⁺从而增加了消毒因子的数目,但当取代度过高时,由于一COOH与一NH₃⁺之间可以形成分子内或分子间氢键消耗了一NH₃⁺的量,使得抗菌效果降低。陈凌云等^[8]认为,羧甲基壳聚糖的抑菌机理可能有如下几种:一是羧甲基壳聚糖通过吸附在细胞表面形成一层高分子膜,从而阻断营养物质向细胞内的运输或羧甲基壳聚糖吸附在细胞膜表面,改变了细胞膜的通透性,致使细胞质流失,细胞质壁分离,从而起到抑菌、杀菌作用;二是羧甲基壳聚糖渗透进入细胞体内吸附细胞内带有电荷的细胞质,发生絮凝作用,扰乱细胞正常的生理活动,或阻断细菌体内DNA的转录,从而抑制细菌的繁殖。

1.5 生物学特性

羧甲基壳聚糖能有效的诱导细胞毒性巨噬细胞,也能诱导嗜中性白细胞的积聚。N-羧甲基壳聚糖对兔子角膜有诱导纤维管化作用^[14],对眼结膜上皮细胞无生理毒性,但对单核细胞/巨噬细胞的比值有影响,近而对T细胞繁殖,及INF- γ 细胞的产生有影响^[15]。Cai^[16]对羧甲基壳聚糖对兔造骨细胞的影响的体外研究表明,造骨细胞在羧甲基壳聚糖修饰聚乳酸膜表面的附着能力大大高于对照膜,造骨细胞的繁殖能力也强于对照组,Hamano等^[17]的研究结果也证实,羧甲基壳聚糖可使造骨细胞聚集,进而影响造骨细胞的繁殖。对羧甲基壳聚糖、壳聚糖溶液及膜对皮肤纤维原细胞的影响研究表明,羧甲基壳聚糖、壳聚糖溶液对皮肤纤维原细胞无生理毒性,但羧甲基壳聚糖膜的生物安全性高于壳聚糖膜,且皮肤纤维原细胞可在羧甲基壳聚糖膜表面很好的附着、生长^[18]。体外实验表明,羧甲基壳聚糖对正常皮肤及疤痕性皮肤的生长及胶原质的分泌有不同的作用。羧甲基壳聚糖可促进正常皮肤纤维原细胞的繁殖,同时对疤痕性皮肤纤维原细胞的繁殖起阻碍作用,Chen等^[19]的研究结果表明,羧甲基壳聚糖可使疤痕性皮肤中I型胶原/III型胶原的比值降低,进而阻止疤痕性皮肤中纤维原细胞的繁殖,但同时正常皮肤I型胶原/III型胶原的比值无影响。

2 羧甲基壳聚糖在生物医学领域的应用

2.1 羧甲基壳聚糖用做烧伤敷料

烧伤病人的伤口很容易腐烂,目前尚无好的解决方法,理想的烧伤敷料不仅要生物相容性好,具有一定的止血抗菌作用,一定的吸湿引流作用和水蒸气透过率,而且要有较好的透气性强度和弹性。Loke等^[20]以羧甲基壳聚糖和壳聚糖为基制材料,制备了伤口包扎材料,外层为羧甲基壳聚糖凝胶膜,内层为浸透抗感染药物的壳聚糖泡沫。外层的羧甲基壳聚糖具有透气作用,同时还可吸附伤口分泌的感染物。体外实验表明,在生理条件下,羧甲基壳聚糖可吸收4倍于本身重量的水,但同时其膜的通透性保持不变,这样就避免了二期烧伤病人伤口分泌物的累积问题。

2.2 羧甲基壳聚糖用做抗术后粘连材料

术后粘连是腹部及心脏等手术后常见的临床问题,是导致肠梗阻、疼痛等术后并发症的主要原因,目前对术后粘连仍没有好的预防途径。羧甲基壳聚糖可显著的降低粘连程度,Duran等^[21]以兔为实验动物,采用2%的N,O-羧甲基壳聚糖凝胶作为抗术后粘连材料植入兔体内,14天后发现粘连情况明显低于对照组。在心脏手术后将N,O-羧甲基壳聚糖直接涂膜于兔心脏及胸骨后表面,14天后也发现其粘连状态明显低于对照组^[22]。Krause等^[23]认为用做术后粘连屏障的理想材料应具备两方面的功能,一是可使粘连程度降低到最小,二是能够提供腹部或胸腔间上皮细胞的生长的环境。羧甲基壳聚糖的抗粘连功能可能是由于其可以调节术后分泌物中的生长因子及细胞原浆的移动产生的。

2.3 羧甲基壳聚糖用做药物辅料

将羧甲基壳聚糖作为药物辅料与氧氟沙星配伍制成滴眼液。由于羧甲基壳聚糖的粘稠度高,延长了药物在眼内的停留期,增强了抗菌作用,可促进角膜组织的修复和愈合,因而与未配伍的药物相比治愈例数增多,用药量减少,进一步降低了药物的毒副作用,提高了药物的生物利用度^[24]。将吗啡与 *N*, *O*-羧甲基壳聚糖配伍,注射到兔子体内,吗啡的止痛作用 10min 后开始有疗效,60min 后达最大,并可持续 6h。而对照组则 30min 后达最大,止痛效果仅能维持 2h。对白血病的长期预防治疗过程中,注射凝血因子是经常采用的方法,用羧甲基壳聚糖作为辅料与凝血因子药物配伍,采用皮下注射法给药,与通常方法比较,血清中凝血因子的含量可保持更长时间^[25]。

2.4 羧甲基壳聚糖用做药物载体

生物大分子药物(包括多肽和蛋白质及基因药物)的给药途径除了注射给药,还包括口服、鼻部、肺部以及眼黏膜给药等。羧甲基壳聚糖可以增强生物大分子药物的透膜能力,提高生物黏附性和生物可降解性,有助于增加生物大分子药物在体内的吸收。羧甲基壳聚糖是两性聚电解质,在水及生理 pH 值下的溶液中可形成粘性凝胶,对低分子量的肝素可通过增强透过肠道上皮细胞的透过性,提高肝素的吸收率。Thanou 等^[26]对兔 Co-2 细胞体外及体内实验结果均证实,当羧甲基壳聚糖的浓度为 3%~5% 时,生理条件下羧甲基壳聚糖可使 Co-2 细胞的上皮细胞透过阻力大大降低,3% 的羧甲基壳聚糖可显著增加低分子量肝素在肠道内的吸收,使其在血液中的浓度达到治疗抗凝性的需要量。但对大分子肽类的药物,羧甲基壳聚糖的增强效果要低于壳聚糖的其它改性产物^[27]。羧甲基壳聚糖在纳米载体系统亦有应用,张晓金等^[28]制备了具有靶向抗癌功能的 *O*-羧甲基壳聚糖(*O*-CMC)磁性纳米载体系统。作为一种新型的纳米磁性靶向载体系统,*O*-CMC 载体粒子兼具磁定位与药物缓释功能,其磁靶向定位作用确定了药物主要在病灶部位聚集,减少了药物对正常细胞的毒副作用;其次,*O*-CMC 可通过活性氨基和羧基同时连接不同的活性物质,如抗肿瘤单抗,抗肿瘤化疗药和基因等而且还能连接某些小分子多肽,如 TAT 等,增加该载体系统跨越血脑屏障的能力,使该纳米载体系统具有比其它载体材料更为广泛。汤爱国^[28]等也制备具有肝靶向性的 *O*-羧甲基乳糖酰化壳聚糖-聚乳酸阿霉素纳米粒。

2.5 羧甲基壳聚糖作为缓释敷料

尹承德等^[30]以羧甲基壳聚糖为缓释敷料,以环丙沙星为模型药物,通过乳化交联方法制备的环丙沙星/羧甲基壳聚糖微球的体外释放实验表明,微球的体外释放速率与微球的交联度、粒径呈负相关,与载药量呈正相关,与酶的降解无关。羧甲基壳聚糖对环丙沙星缓释作用,除了可以延缓模型药物的溶解和施出外,还能抑制药物在微球中的扩散,这是由于环丙沙星与羧甲基壳聚糖之间存在静电荷作用,使得环丙沙星在微球中的扩散速度减慢。

2.6 羧甲基壳聚糖用做酶抑制剂

酶屏障是生物大分子药物口服生物利用度较低的一个重要因素,酶抑制剂的应用常常被其局部甚至全身性毒性所限制,将酶与某些不吸收的载体基质,特别是生物黏附性聚合物共价结合,可以改善这一状况。*L*-天门冬酰氨酶具有一定的抗癌作用,但 *L*-天门冬酰氨酶是一种异体蛋白,对人体有一定的免疫原性,甚至可引起过敏性休克。此外该酶在体内的半衰期较短,影响了其作为生物类药品在治疗癌症中的推广应用。辛秀娟等^[31]和 Ma 等^[32]分别采用羧甲基壳聚糖对 *L*-天门冬酰氨酶进行修饰,结果均表明修饰后的酶可有效降低抗原性,同时保持较高的酶活性。羧甲基壳聚糖修饰作用的机理可能有两方面:一是修饰剂修饰了与抗原决定簇相关的氨基,破坏了抗原决定簇,从而使抗原性降低;二是羧甲基壳聚糖的空间屏蔽作用,使某些大分子物质(如蛋白水解酶、抗体分子、体内免疫活性细胞)不易与酶分子相互作用,因而使修饰酶具有抗蛋白水解、半衰期长、抗原抗体反应性及免疫性降低等优点^[30]。

羧甲基壳聚糖有与壳聚糖相似的生物学特性,但羧甲基壳聚糖在生理条件下可溶,而且羧甲基壳聚糖分子中既具有阴离子基团 $-\text{COO}^-$ 又具有阳离子基团 $-\text{NH}_3^+$,使得它在生物医学领域应用的潜力巨大。今后羧甲基壳聚糖的研究重点可能放在(1)羧甲基壳聚糖的结构、取代基位置与生物活性的相关性研究、带电性能与制备条件间关系的研究;(2)羧甲基壳聚糖除具有促细胞生长的作用外,在清除氧自

由基,提高免疫力等生理功能方面的研究也应加强;(3)羧甲基壳聚糖在人工皮肤、人工骨、等组织工程材料方面的研究。

随着对羧甲基壳聚糖研究的深入,其应用从实验室走向工业化生产的速度也将加快,羧甲基壳聚糖将成为继壳聚糖之后生物医学医学领域另一个热点材料,从而产生巨大的经济效益和社会效益。

参考文献:

- [1] Tasker R A R, Connel B J, Ross S J. Lab Anim-UK, 1998, 32 (3) :270.
- [2] 赵爱杰, 原续波, 常津. 高分子通报, 2004, (4) : 59.
- [3] Chen X, Park H J. Carbohydr Polym, 2003, 53 (1) :55.
- [4] Zhang L, Gao J, Zhou J, et al. J Appl Polym Sci,2000, 77 (3) : 610.
- [5] Tomihata K, Ikada Y. Biomaterials,1997,18(7):567.
- [6] 王锋, 庄昭霞, 卢凤崎. 山东大学学报(医学版),2002, 40 (4) : 367.
- [7] 陈浩凡, 潘仕荣, 胡瑜. 中国药师,2005, 8 (10) : 807.
- [8] 陈凌云, 杜子民. 武汉大学学报(自然科学版),2000,46 (2) : 191.
- [9] 李治, 刘小非, 管云林. 日用化学工业, 2000, 30 (6) : 10.
- [10] 刘瑾, 唐梓进. 南京师范大学学报(自然科学版),1999, 22 (4) : 73.
- [11] Zhao L, Mitomo H, Zhai M, et al. Carbohydr Polym, 2003, 53 (4) : 439.
- [12] Muzzarelli, R A A, Muzzarelli C. Biomacromolecules, 2001,2 (1) : 165.
- [13] Li Z, Zhuang X, Liu X, et al. Polymer, 2002, 43 (4) : 1541.
- [14] Biagini G, Pngnloni A. Elsevier Applied Science. London and New York, 1989 : 671.
- [15] Langford M P, Schulman J A, Mukherjee D. Southern Biomedical Engineering Conference — Proceedings, 1995: 286.
- [16] Cai K, Yao K, Li Z. J Biomat Sci—Polym, 2001,12 (12) : 1305.
- [17] Hamano T, Chiba D, Nakatsuka K, et al. Polym Advan Technol,2002,13 (1) : 46.
- [18] Zheng L, Chen X, Liu W. Prog Biochem Biophys, 2003,30 (2) : 314.
- [19] Chen X, Wang Z, Liu W, et al. Biomaterials, 2002, 23 (23) : 4609
- [20] Loke W K, Lau S K, Yong L L, et al. J Biomed Mate Res, 2000,53 (1) : 8.
- [21] Duran B, AK D, Cetin A, et al. Exp Anim TOKYO, 2003, 52 (4) : 267.
- [22] Krause T J, Zazanis G, Malatesta P, et al. J Invest Surg, 2001,14 (2) : 93.
- [23] Krause T J, Goldsmith N K, Ebner S, et al. J Invest Surg, 1998,11(2):105.
- [24] 韦萍, 王爱勤. 兰州医学院学报, 2003, 29 (1) : 71.
- [25] Miekka S I, Jameson T, Singh M, et al. Haemophilia,1998,4 (4) : 436.
- [26] Thanou M, Nihot M T, Jansen M, et al, J Pharm Sci,2001,90:38.
- [27] Thnaou M, Verhoef J C, Jungginger H E. Adv Drug Deliver Rev, 2001, 52 (2) :117.
- [28] 张晓金, 原续波, 胡云霞, 等. 高分子通报 2004, (6) :89.
- [29] 汤爱国, 张阳德. 中国现代医学杂志 2006, 16(12):1786.
- [30] 尹承德, 侯春林, 蒋丽霞, 等. 第二军医大学学报,2002,23(5): 536.
- [31] 辛秀娟, 魏东芝, 董常松, 等. 华东理工大学学报, 2002,28(4): 380.
- [32] Ma J, Li M, Qian G, et al. Transactions of the Annual Meeting of the Society for Biomaterials in Conjunction with the International Biomaterials Symposium, 1996,2:237.

The Performances and Applications in Biomedicine of Carboxymethylchitosan

ZHAO Li-rui^{1,2} SUN Duo-xian¹ LIU Man-ying²

(1. School of Chemical Engineering and technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. School of basic chemical sciences, Hebei medical university, Shijiazhuang 050017, China)

Abstract; Carboxymethylchitosan is a kind of nature biomaterial with multi functional groups. It is widely used in food, cosmetic, environment protection, printing and dyeing, and agriculture. Because of its good performances and low cost it has great potential uses in biomedicine. In this paper we summarized the water solubility, membrane formation, antimicrobial ability, degradability and biology properties of carboxymethylchitosan and the applications in biomedicine of carboxymethylchitosan including wound dressing, reduction of postoperative adhesions, drug delivery carrier were reviewed generally.

Key words; Carboxymethylchitosan; Chitosan; Biomedical materials