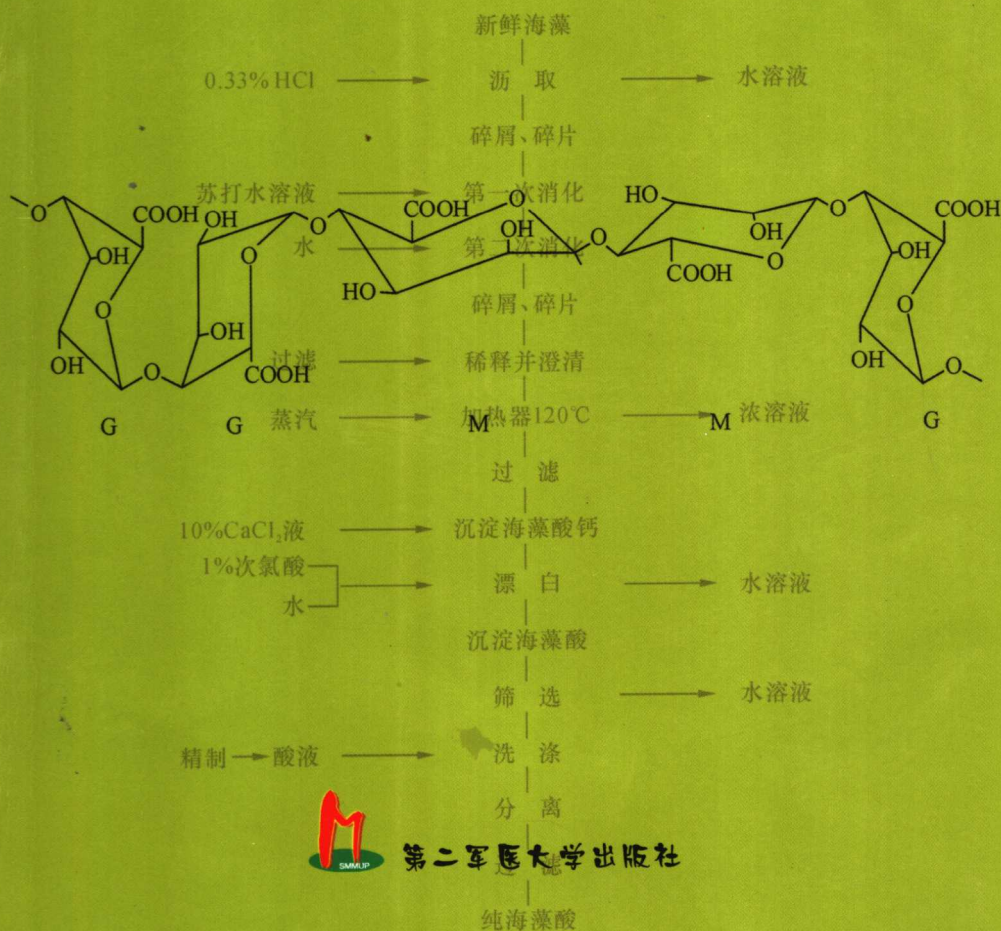


天然可降解性生物医用材料丛书

海藻酸与临床医学

Alginate-based Biomaterials in Clinical Medicine

顾其胜 奚廷斐 主编



第二军医大学出版社

天然可降解性生物医用材料丛书

主编 顾其胜
奚廷斐

海藻酸与临床医学

Alginate-based Biomaterials
in Clinical Medicine

第二军医大学出版社

内 容 提 要

海藻酸主要源自于海藻和细菌。海藻酸作为一种生物医用材料,在生物医用材料学、临床医学、组织工程学和药物学中的应用正在受到越来越多的研究者的关注,并研究开发出许多新的产品。

本书第一章阐述了海藻酸的来源、组成与结构、提取工艺与理化性质、生物合成与酶水解、生物学功能与应用;第二章介绍了海藻酸盐的工业、食品和医药标准,并重点介绍了 ASTM 关于海藻酸盐的医药标准以及检测方法;第三章主要介绍近年来人们比较关注的海藻酸复合材料;第四、五章分别介绍了海藻酸钠栓塞剂和海藻酸钠微囊免疫隔离技术及其临床应用。

本书的读者对象为医药学科工作者,对在校大学生及研究生也不失为一本良好的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

海藻酸与临床医学/顾其胜,奚廷斐主编.-上海:第二军医大学出版社,2006.05
(天然可降解性生物医用材料丛书)

ISBN 7-81060-580-1

I.海… II.①顾…②奚… III.①海藻-基本知识 ②海藻-应用-临床医学 IV.①Q949.2 ②R318.08

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 000049 号

海藻酸与临床医学

主编:顾其胜 奚廷斐

责任编辑:王 楠

第二军医大学出版社出版发行

(上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433)

全国各地新华书店经销

上海崇明裕安印刷厂印刷

开本:850×1168 1/32 印张:6.75 字数:168 千字

2006 年 5 月第 1 版 2006 年 5 月第 1 次印刷

印数:1~3800

ISBN 7-81060-580-1/Q·018

定价:20.00 元

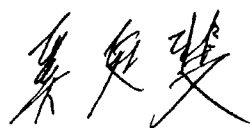
序

海藻酸主要是从褐藻(例如海带、马尾藻)中提取的,为一种 *D*-甘露糖醛酸和 *L*-古洛糖醛酸的线型聚糖醛酸。海藻酸盐是一种很好的胶化和增稠试剂,广泛应用于食品工业。近年来,海藻酸作为衍生生物材料在组织工程和医疗器械领域中显示了重要应用。

海藻酸作为印模材料已在口腔医疗中广泛应用,同时在烧伤、创伤及整形外科中也得到较广泛应用。近年来,海藻酸作为血管栓塞剂和组织工程免疫隔离材料成功地应用于临床,并取得了意想不到的疗效。

本书作者在总结海藻酸研究、生产和临床应用多年的实践基础上,并参阅了国内外大量文献,撰写了《海藻酸与临床医学》这本专著,着重介绍了海藻酸的提取及其复合材料的制备,并且引述了药用海藻酸及组织工程用海藻酸标准。此外,还介绍了海藻酸作为血管栓塞剂和组织工程免疫隔离材料的临床应用情况。因此,本书的出版将对海藻酸的医用产品的产业化起到推动作用,也将进一步推动海藻酸及其临床应用的研究和发展。

本书是天然可降解性生物医用材料丛书第4本专著,为有关大专院校、科研机构、生产企业、检验和临床使用单位的技术人员提供了一本很有价值的参考书。



* 奚廷斐,研究员,博士生导师。现为国家食品药品监督管理局中检所医疗器械质量监督检验中心主任;中国生物医学工程学会生物材料分会主任委员。

前 言

海藻酸(alginate)主要从生活在寒带或温带海岸的褐藻中提取。从海藻中提取的海藻酸盐是一个含有不同量的 *D*-甘露糖醛酸和 *L*-古罗糖醛酸的线型聚糖醛酸,其中 *D*-甘露糖醛酸和 *L*-古罗糖醛酸的连接是 1→4 连接。在商业产品中,海藻酸一般以海藻酸盐形式存在,如海藻酸钠、海藻酸钙、海藻酸钾、海藻酸铵等。海藻酸盐是一种优秀的胶化和增稠试剂,广泛地应用于化工、食品、纺织、制药、环保等诸多领域。近年来,海藻酸盐在生物医药领域也显示了其重要应用。

海藻酸作为一种新型生物医用材料近年来深受广大学者的关注,尤其是作为药物栓塞剂和免疫隔离制剂。本书首先介绍可降解生物医用材料海藻酸的来源、组成与结构、提取工艺与理化性质、生物合成与酶水解、生物学功能与应用;其次介绍海藻酸盐的工业、食品和医药标准及其检测方法;第三章参考国内外大量文献资料,主要介绍了近年来人们比较关注的海藻酸复合材料及其应用和发展前景;第四章结合我们自己的实践介绍了海藻酸钠栓塞微球的制备以及作为血管栓塞剂的动物试验

及临床应用;最后,介绍了海藻酸钠微囊免疫隔离技术的原理、方法、临床应用,并展望其发展趋势。总之,本书从以上几个方面对海藻酸作为生物医用材料的性质、作用以及实际临床应用作了比较全面的阐述,为各大专院校和科研院所同行研究者提供一本有价值的参考书。

我们邀请了中国医科院肿瘤医院的史仲华教授、广州医学院附属医院的陈春林教授、徐州医学院附属医院的祖茂衡教授等临床医生以及北京圣医耀科技发展有限公司的总经理洪宏和上海其胜生物制剂有限公司富有经验的蒋丽霞、严凯作为主要参编人员,共同撰写了《海藻酸与临床医学》一书。

本书是利用业余时间编写而成的,因时间仓促,加之作者水平有限,在这方面的研究及应用还不够全面和深入。因此,在本书中如有不足和错误之处,敬请广大读者批评指教。

顾其胜 奚廷斐

2005年10月

目 录

第一章 海藻酸概述	(1)
第一节 来源、组成与结构	(2)
一、海藻酸的来源	(2)
二、海藻酸的组成	(6)
三、海藻酸的结构	(8)
第二节 提取工艺与理化性质	(13)
一、提取工艺	(13)
二、海藻酸及其盐的理化性质	(18)
第三节 生物合成与酶水解	(22)
一、生物合成	(22)
二、生物合成的分子遗传学	(26)
三、海藻酸盐水解酶	(30)
第四节 生物学功能与应用	(35)
一、生物学功能	(35)
二、用途	(37)
第二章 检测方法与标准	(42)
第一节 海藻酸盐的国内外标准	(42)
一、工业标准	(43)
二、食品标准	(46)
三、医药标准	(49)
第二节 ASTM 关于海藻酸盐的医药标准	(53)
一、标准简介	(53)
二、技术控制指标	(54)
第三节 检测方法	(59)
一、傅里叶变换红外光谱	(59)

二、海藻酸盐的组成和序列结构	(61)
三、分子量	(62)
四、水溶液的黏性	(71)
五、干燥物质含量	(73)
六、灰分	(75)
七、内毒素含量	(76)
八、蛋白含量	(79)
九、重金属含量	(79)
十、微生物学安全性	(82)
十一、稳定性	(84)
十二、灭菌方法	(87)
十三、生物安全性	(88)
第三章 海藻酸复合材料	(100)
第一节 生物医用复合材料概述	(100)
一、生物医用复合材料的概念	(100)
二、生物医用复合材料的特征	(101)
三、复合材料的界面和界面设计	(101)
四、生物医用复合材料的分类	(103)
五、海藻酸复合材料	(105)
第二节 海藻酸-蛋白类复合材料	(105)
一、海藻酸-明胶复合材料	(105)
二、海藻酸-聚赖氨酸复合材料	(108)
三、海藻酸钙-聚精氨酸-壳聚糖复合材料	(110)
四、海藻酸-多肽复合材料	(110)
第三节 海藻酸-多糖类复合材料	(112)
一、海藻酸-壳聚糖复合材料	(112)
二、海藻酸-透明质酸复合材料	(117)
三、海藻酸-乳糖复合材料	(118)

四、海藻酸-纤维素复合材料	(119)
第四节 海藻酸-生物无机复合材料	(120)
一、海藻酸-氯化钡复合材料	(121)
二、海藻酸-羟基磷灰石复合材料	(122)
三、海藻酸-磷酸钛钙陶瓷复合材料	(125)
四、海藻酸-磷酸钙水泥复合材料	(125)
五、壳聚糖-海藻酸-氯化钙复合材料	(126)
第五节 海藻酸-有机合成高分子复合材料	(127)
一、海藻酸-聚乙烯醇复合材料	(127)
二、海藻酸-壳聚糖-聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)复合 材料	(129)
三、海藻酸-聚乙烯乙二醇复合材料	(129)
四、海藻酸-聚乳酸复合材料	(131)
五、海藻酸钙-聚(N-乙基己内酰胺)复合材料	(132)
第四章 海藻酸钠栓塞剂	(136)
第一节 概述	(136)
一、栓塞的适应证	(136)
二、栓塞技术	(137)
三、栓塞材料	(138)
第二节 海藻酸钠微球栓塞剂	(140)
一、海藻酸钠微球	(140)
二、海藻酸钠微球血管栓塞剂动物试验	(143)
三、海藻酸钠微球血管栓塞剂的临床应用	(147)
第五章 海藻酸钠微囊免疫隔离技术	(169)
第一节 微囊化免疫隔离技术的原理与方法	(170)
一、微囊化免疫隔离技术的原理	(170)
二、海藻酸钠微囊的制备方法	(172)
第二节 海藻酸钠微囊免疫隔离膜的应用	(177)

一、海藻酸钠微囊化组织细胞移植治疗糖尿病	(177)
二、海藻酸钠微囊化组织细胞移植治疗急性肝功能衰竭 及甲状旁腺功能低下	(180)
三、海藻酸钠微囊化组织细胞移植治疗神经系统 疾病	(183)
四、海藻酸钠微囊化组织细胞移植治疗其他疾病	(187)
五、海藻酸钠微囊在基因治疗方面的应用	(189)
第三节 影响海藻酸钠微囊性能的因素	(191)
一、海藻酸钠纯度对微囊纤维化和囊内组织细胞功能的 影响	(191)
二、壳聚糖分子量对海藻酸钠微囊强度的影响	(192)
三、pH 值对微胶囊强度和通透性的影响	(193)
四、微囊体积对囊内组织细胞存活及功能的影响	(194)
五、其他因素对海藻酸钠微囊性能的影响	(195)
第四节 微囊化免疫隔离技术的展望	(196)

第一章 海藻酸概述

早在 1881 年,苏格兰化学家 Stanford E. C. C. 首先从褐藻中分离提取了一种物质,当时称之为 Algin(中文曾译为:褐藻胶)。如果再加入酸则可形成凝胶,故又称之为 Alginic Acid(可译为:海藻酸),并且申请了专利。但是由于 Stanford 当时并没有将海藻酸予以纯化,因产品不纯而被误认为是一种含氮的物质。尽管他曾提出许多关于使海藻酸商业化的建议,但都无一成功。15 年后,Krefting 从挪威产的褐藻中制备了纯海藻酸,命名为 Tangsaure。经分析,结果表明:该物质不含氮。Stanford 研发的海藻酸当时在英国开始投入生产并用于废水处理。1929 年,美国开始大规模生产。20 世纪 30 年代开始,日本等国相继研发和生产。我国是在 50 年代初,最早由中国科学院海藻研究所开始进行提取和纯化方面的研究,随后山东、浙江、福建、广东相继开始了研发与生产,经查阅可以认定:我国的大规模生产大多是在 50~60 年代中发展起来的,70 年代起我国开创了海藻工业。当时的生产不仅是提取海藻酸,主要还是提取甘露醇、碘、钾等。随着生产规模的逐渐扩大,用途也随之拓展。现在全世界的年产量据估计至少在 50 000 吨以上,并且每年大约以 10% 的速度增长,主要生产国有美国、英国、法国、日本、挪威和中国等。

海藻酸主要源自于海藻和细菌,由此也被称为藻类海藻酸和菌类海藻酸。海藻有四大类,即红藻、蓝藻、绿藻和褐藻。褐藻中含有大量的海藻酸,是藻类海藻酸提取的原料。细菌的种类繁多,可产生海藻酸的主要有假单胞菌属和固氮菌等。也就是说,可以用这两种菌株来作为生产海藻酸的工程菌。尽管如此,目前生产的海藻酸事实上大多数仍然是从海带及海藻中提取的。海洋生物资源是一

个蕴藏着巨大潜力的宝库,是一个可再生的资源,尤其在海带人工养殖获得成功後更是如此。

海藻酸曾被称之为褐藻酸、藻朊酸等。当其与一价以上金属离子结合后转化为海藻酸盐(alginate)。市场上一般常用的是海藻酸钠(sodium alginate)。因为只有制成海藻酸盐才具有水溶性,才能拓展其应用。诚然,除了钠盐之外,还有海藻酸钙、海藻酸钾、海藻酸镁、海藻酸铵等。

现在海藻酸已广泛应用在化工、食品、纺织、制药、环保等诸多领域。本文着重介绍其在生物医药方面的应用,具体在本章第四节及以后各章中予以详尽叙述。

第一节 来源、组成与结构

一、海藻酸的来源

(一) 藻类海藻酸

目前,世界各国生产海藻酸所用的原料从植物的分类而言,主要是褐藻门下的海带目和墨角藻目。在这2个目下约有10多个科、20多个属、50多种藻类可被利用。我国沿海地区利用的也有近10个科约30多种藻类(表1-1)。

尽管有上述30多种原料可供提取海藻酸用,但目前常用的仍为海藻和马尾藻等。在制备海藻酸时要注意以下几个问题,即:不同原料中海藻酸含量不同,同一原料不同部位其海藻酸含量不同,同一原料不同采集季节其海藻酸含量也不同,这些对于大规模生产恒定生产条件是十分重要的前提,为此简述如下:

1. 不同原料中的海藻酸含量 由于海藻的种类颇多,全面描述篇幅太大,为说明问题,本文仅以生产常用原料,即海带和马尾藻2个科的6种原料为例,以列表形式予以说明(表1-2)。

表 1-1 我国生产海藻酸所取的原藻种类

编号	原藻科	原藻种类
1	海带科	海带、裙带菜、昆布、绳藻
2	点叶藻科	萱藻、囊藻、点叶藻、鹅肠藻
3	网地藻科	网地藻、大团扇藻、印度网地藻、褐舌藻
4	马尾藻科	海蒿子、海黍子、鼠尾藻、羊栖菜、半叶马尾藻、铜藻、马尾藻、喇叭藻、棱翼喇叭藻、裂叶马尾藻、瓦氏马尾藻、匍枝马尾藻、多孔马尾藻
5	铁钉菜科	铁钉菜、叶状铁钉菜
6	囊叶藻科	簇生囊叶藻
7	墨角藻科	鹿角菜

表 1-2 6 种原料中海藻酸的含量(%)

	日本	中国
海带科		
海带	17.1~22.5	14.2~20.8
裙带菜	22.1~28.8	28.0~35.9
昆布	16.0~34.3	13.0~25.6
马尾藻科		
海蒿子	22.3	10.7~26.1
海黍子	15.8	16.3~24.4
鼠尾藻	14.3~18.8	12.5~26.2

从上述表中可以明显看出不同科别中海藻酸含量的区别和同一科、不同种类的差异。同样,不同地域、同一种类中的海藻酸含量也不一样。而且,从表中所示范围便可得知,即使同一种原料也有一定的含量范围,这可能不仅仅是各家检测方法之间的区别,而且还可能是由同一原料中不同部位中的含量不同所致。

2. 同一原料不同部位区别 与上述同样,同一原料的藻类其不

同部位中的海藻酸含量也不同,以裂叶马尾藻、巨藻和海带为例,如表 1-3、表 1-4 所示。

表 1-3 2 种藻中不同部位的海藻酸含量(%)

部位	裂叶马尾藻	巨藻
叶片	16.0	22.4
茎部	24.5	29.8
气囊	19.9	23.3

表 1-4 2 种海带不同部位的海藻酸含量(%)

部位	海藻酸含量
狭叶海带	15~40
叶	15~26
柄	27~33
极北海带	14~24
叶	9~19
柄	19~23

3. 不同采集季节的影响 不同采集季节的影响可大到相差 50% 以上;不同地方的同一季节也相差甚大。如:Chapman 报道,在加拿大东岸生长的长海带,5 月份和 11 月份含量最高,而 3~9 月份含量最低;纪明侯等对青岛海带的海藻酸含量经 2 年连续观察,结果认为,5~6 月份为最高值,而 7~9 月份为最低;大连的海带含量最高值在 3~5 月份,7~8 月份为最低值。显然,不同地域、不同季节、同一种类的原料中海藻酸含量区别甚大。此外,还有同一种原料在不同采集地点,其含量也不尽相同。综上所述,在描述海藻酸生产时,常将上述综合在一起表述,即列表所示生产采集原料的日期、地点和采集原料的科目及种类,并注明该种所用部位,这样对稳定生产及保证质量是一个有力的保障。

(二) 菌类海藻酸

目前被认知的产生海藻酸的有 2 种菌属,即假单胞菌属和固氮菌属(表 1-5)。

表 1-5 产生海藻酸的菌株

菌株	M/G 比率*
棕色固氮菌	范围较大
褐球固氮菌	
铜绿假单胞菌	1:0~0.6:0.4
荧光假单胞菌	0.6:0.4
栖菜豆假单胞菌	0.95:0.05
豌豆绿假单胞菌	0.83:0.17
恶臭假单胞菌	0.6:0.4

* M/G 比率:系海藻酸分子中甘露糖醛酸(M)和古洛糖醛酸(G)所占的比率

1. 假单胞菌 这是一种自然界及人体中广泛存在的微生物,一般不是原发性致病菌。然而,产生黏性物质的菌株所造成的次级感染则可大大增加。假单胞菌感染的主要症状是慢性呼吸道感染,并伴随囊纤维化。经抗生素处理后,黏性菌株取代非黏性菌株成为主要致病菌,这种菌株可向其胞外分泌大量的海藻酸盐。菌株的致病性似乎与海藻酸盐产生有关。但是如果把细菌从患者肺部转移至体外进行固体或液体培养时,该细菌又往往不产生黏多糖,因此认为,该种细菌产生海藻酸盐并不是普遍现象。实验表明,非黏性菌株对人体无害,所分泌的海藻酸盐对其本身的细菌起到了保护作用,致使抗生素不易进入杀死细菌。同时,实验还表明,海藻酸盐的存在使巨噬细胞吞噬能力下降。该菌属细菌产生的海藻酸盐经分析,结果发现有的仅为单个 G 残基现象,即为 G 型,而无 M 残基。

2. 固氮菌 在各种培养条件下该菌都能产生海藻酸盐,因此可考虑将其作为工程菌。实验发现,用该工程菌产生海藻酸盐,受其培养条件中营养成分的调节,其中最为显著的是,如存在高 C/N 比

例时,胞外黏多糖的产生就增加。另外还发现,在培养基中 Ca^{2+} 含量水平也会明显影响胞外多糖的产生和化学组成。即: Ca^{2+} 低含量水平时,古洛糖醛酸含量就低(10%~20%);反之, Ca^{2+} 含量水平增加,古洛糖醛酸含量就升高。实验还表明, Ca^{2+} 浓度对海藻酸盐组成的调节是通过对 C-5 异构酶的影响所完成的。

细菌培养制得海藻酸为生产海藻酸提供了另一种来源。许多种革兰阴性细菌产生与藻类海藻酸相似的多糖,同时它们也具备了工业化生产所需的条件。在选择生产海藻酸盐的菌株时,需要考虑这样几个问题:①菌类海藻酸与藻类海藻酸的相似性;②大规模生产的便利程度;③生产所需的各种耗费;④在某些应用上它是否能取代藻类产品;⑤对细菌产品的使用,法律或其他方面可能提出的质疑。海藻酸盐合成中存在的问题包括:①细菌产生不仅仅是一种多糖;②因合成内部储存产物,如 PHB 对反应底物的竞争;③细菌利用碳源和不严格条件下生长的能力不强;④生物合成途径烦琐;⑤生产所需的消耗较之藻类海藻酸大。从目前来看,它还不能代替藻类成为海藻酸盐主要生产手段。所有来自革兰阴性菌株,如假单胞菌属和固氮菌属的细菌海藻酸盐,其产物与藻类海藻酸盐不同之处在于存在不同程度与 D-甘露糖残基相连的乙酰化基团。乙酰化会影响变构酶程度,从而影响海藻酸盐的化学结构。乙酰化也会影响海藻酸盐的理化性质,包括黏度和与 Ca^{2+} 的作用。乙酰化海藻酸钙胶的弹性系数随乙酰化程度的增加而下降,但是乙酰化海藻酸钙胶吸水性却大大增加,同时乙酰化海藻酸盐对降解海藻酸盐的裂解酶更加不敏感。由于内源性海藻酸盐裂解酶的存在,其海藻酸盐的分子量差异很大。

二、海藻酸的组成

如将海藻酸用硫酸进行充分水解,随之浓缩后进行纸色谱法检测,可以看出,在其水解产物中有 D-甘露糖醛酸(M)和 L-古洛糖醛酸(G)。在此基础上,许多学者又对海藻酸水解液甘露糖醛酸与