

黄原胶在医药领域研究进展

宋志刚 张向阳

(济宁医学院基础学院, 济宁 272067)



宋志刚,男,汉族,山东兖州人,1982 年 1 月出生。2006 年 7 月获生物化学与分子生物学理学硕士学位。2011 年考入山东大学药学院微生物与生化药学专业攻读博士学位,在校期间被评为 2014 年山东大学优秀研究生,获 2014 年山东大学研究生科研成果奖学金及 2014 年中国药学会优秀论文三等奖,2015 年获医学博士学位。读博士期间在山东大学国家糖工程中心及山东省药学院、山东省多糖类药物工程实验室开展科研工作。主要从事生物多糖的制备、结构分析与活性研究。参与国家重大新药创制专项:国家山东创新药物孵化基地子课题——黄原胶注射液的研究与开发(2010ZX090401-302-2-22),曾在 *Carbohydrate Polymers*、*Biorheology* 上发表文章各 1 篇(IF 分别为 4.219、1.293)。目前主要研究对象是黄原胶,包括黄原胶的发酵、精制,不同高分子量黄原胶的制备及其活性研究,基于近红外光谱分析技术的黄原胶分子量快速检测研究,以及黄原胶注射液及其相关产品的研究与开发等。

摘要 黄原胶是由甘蓝黑腐病黄单胞菌发酵产生的一种大分子细胞外杂多糖,广泛用于食品、药品、化妆品、纺织和石油等多个领域。因其具有高稳定性、高黏弹性和安全无毒的特点,在医药领域中的应用具有较大潜力。本文对近年来黄原胶在药物制剂、治疗实验性骨关节炎和免疫调节作用等方面的研究进展作一综述。

关键词 黄原胶;医药;骨关节炎;免疫

中图分类号:R319 文献标识码:A 文章编号:1000-9760(2016)08-229-05

Research progress of *Xanthan Gum* in medicine

SONG Zhigang, ZHANG Xiangyang

(School of Basic Sciences, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective *Xanthan gum* is a high molecular weight extracellular heteropolysaccharide produced from fermentation of *Xanthomonas campestris* which is widely used in many industries mainly in the food, cosmetic, textile, oil and pharmaceutical fields. According to the properties of *Xanthan gum* such as high stability, high viscoelasticity and safety, it may have great potential applications in medicine. Research progress of *Xanthan gum* in medicine were reviewed in this paper, including pharmaceutical preparations, the therapeutic effect on experimental osteoarthritis and immune regulation, etc.

Keywords: *Xanthan gum*; Medicine; Osteoarthritis; Immune

黄原胶(*Xanthan gum*)是由甘蓝黑腐病黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)分泌的一种细胞外杂多糖^[1]。其基本结构是由重复的五糖单元组成(图1),主链为 D-葡萄糖以 β -1,4-糖苷键连接而成的类纤维素结构,侧链由 α -甘露糖、 β -葡糖醛酸和 β -甘露糖组成的三糖单位构成,靠近主链的 α -

甘露糖残基常被乙酰化,侧链末端的部分甘露糖残基上连有丙酮酰基。乙酰基和丙酮酰基的存在使黄原胶具有阴离子多糖的性质,其取代程度和相对含量取决于发酵所使用的菌株及其生长条件^[2]。侧链上的荷电基团能够影响其溶解度及构象,侧链与主链间存在的非共价键起稳定整体构象的作

用^[3]。在低盐溶液中,黄原胶的侧链紧密缠绕主链,形成稳定、规则的双螺旋结构^[4-5]。

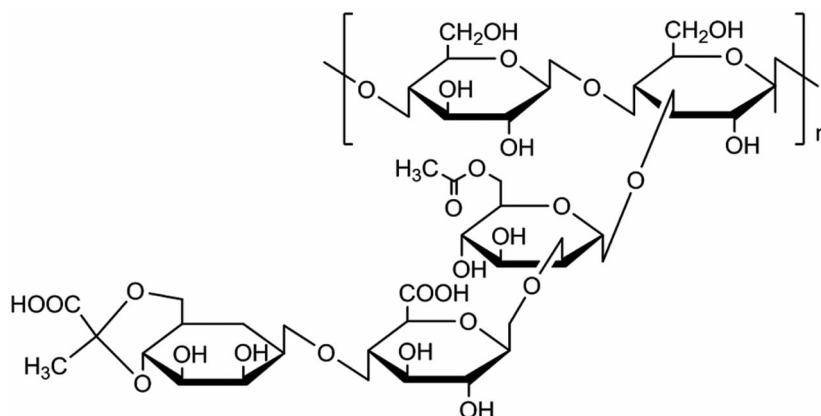


图1 黄原胶的结构

1 黄原胶的理化特性

黄原胶的结构使其具有许多独特的性质。黄原胶分子在水溶液中形成刚性的双螺旋构象,其稳定性要优于大多数水溶性生物大分子^[5],从而使其具有耐酸、耐碱、耐高温和抗酶解等特性^[6]。

黄原胶溶液是典型的假塑性流体,其黏度随剪切速率的增加而急剧下降。在高剪切速率时,黄原胶溶液黏度较低,使其很容易被混合、灌注和吞咽;在低剪切率时,溶液具有高黏度,具备良好的增稠性和悬浮性,能够增加胶体溶液的稳定性,可在食品、饮料和药物制剂中作为稳定剂和乳化剂^[7]。高浓度的黄原胶溶液有显著的黏弹性,具有溶液的黏性和凝胶的弹性这一双重特性,随着剪切速率的增加,溶液由黏性体向弹性体转变,具有缓冲应力的作用^[8]。

黄原胶是大分子多糖,其相对分子质量(relative molecular weight, M_r)分布范围为 $2 \times 10^6 \sim 2 \times 10^7$ 。 M_r 是表征黄原胶特性的基本参数之一,也是工业生产中质量检测的一个重要指标。不同 M_r 的黄原胶表现出不同的理化特性,其用途也不同^[9]。由于黄原胶具有很高的 M_r ,分子呈刚性结构以及分子中聚集体的存在,其 M_r 的精确测定是相当困难的。

用于测定黄原胶 M_r 的方法主要有:特性黏度法、体积排阻色谱结合多角度激光散射法(size exclusion chromatography combined with multi-angle laser light scattering, SEC-MALLS)、非对称流场流分离技术结合多角度激光散射法(asymmetrical flow field flow fractionation combined with multi-angle laser light scattering, AFFFF-MALLS)和电子显微镜法

等。目前较为常用的是特性黏度法和 SEC-MALLS,其中 SEC-MALLS 是测定聚合物 M_r 的首选方法。该方法能够直接测定聚合物的绝对 M_r 、 M_r 分布等参数,无需对照品和进行色谱柱标定^[10]。AFFFF-MALLS 具有高分辨率,特别是对高 M_r 的样品,比 SEC-MALLS 具有更好的分离效果。电子显微镜法受仪器和实验条件的限制,无法应用于实际生产。这些方法分析速度慢,操作步骤多,费时费力,适用于实验室中少量样品的分析检验,却无法满足不同企业对大量样品的成批、快速、在线测定的需要。近红外光谱分析技术(near-infrared spectroscopy, NIRS)具有使用简单方便、分析快速、不破坏样品、低成本、可进行远距离在线检测等特点,是一种新型的分析技术^[11]。近年来, NIRS 已展现出其在检测或在线监测聚合物 M_r 中的应用潜力,并已实现了对透明质酸 M_r 的定量分析^[12-13]。目前,已建立起了基于 NIRS 的黄原胶 M_r 的定量分析模型。该方法简单、实用,实现了黄原胶 M_r 的快速测定,其准确度和精密度能够满足实际检测要求,有望成为一种黄原胶生产过程中快速检测 M_r 的方法,可以作为质控的标准,在工厂中实现对黄原胶 M_r 的在线分析^[14]。

黄原胶安全无毒,口服摄入不被人体消化,是最早被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于食品工业的微生物发酵胞外多糖^[1]。黄原胶于 1975 年开始被美国药典-处方集(USP-NF)收录至现行版(2012)^[15],2010 年作为药用辅料被中国药典收载^[16]。黄原胶本身具有的优良理化性能,使其在生物医药方面的应用存在较大潜力,被国内、外所持续关注。

2 黄原胶在药物制剂中的应用

黄原胶化学性质稳定,安全无毒,口服摄入不被人体消化,具有良好的生物相容性和生物黏附性,在药物制剂中被广泛研究和应用^[17-18]。

在固体制剂中,黄原胶主要起到黏合、崩解、缓释和控释作用^[19-21]。黄原胶有良好的黏合作用,可与淀粉、羧甲基纤维素、壳聚糖等多种辅料配伍制备不同硬度、溶出速率的缓释片。黄原胶溶液在低浓度时便具有较高的黏度,在液体和半固体制剂中用作增稠剂、助悬剂、乳化剂和稳定剂。黄原胶的高黏性可使外用制剂更易涂布,不易从皮肤上脱落,有助于提高药物的生物利用度,增加用药的舒适感^[22-23]。在眼用制剂中,黄原胶用作滴眼液助剂能够延长药物与用药部位的接触时间。因其假塑性流体的性质,眨眼时产生的剪切力能够使其黏度迅速降低,不会对眼睛造成不适感。黄原胶和硫酸软骨素、透明质酸钠等混合制备的滴眼液可保护角膜上皮细胞并加速细胞再生^[24-25]。以黄原胶为凝胶基质制备的眼用凝胶剂,均一、稳定、凝胶强度良好,对角膜表面具有很好的生物黏附作用,能明显延长药物滞留时间而提高疗效,延缓药物释放^[25]。

3 黄原胶在治疗骨关节炎中的应用

骨关节炎(osteoarthritis)是以关节软骨破坏和骨质增生为特点的常见骨关节疾病,是导致中老年人关节疼痛及功能障碍的主要原因之一。骨关节炎的发病机制之一被认为是骨关节炎患者滑囊液中透明质酸的浓度下降,使得患者滑囊液的黏弹性下降,关节软骨磨损加剧,导致软骨损伤,进而引起软骨退行性病变^[26]。多年的基础和临床研究表明,关节腔内注射透明质酸钠有助于恢复其黏弹性,能够起到缓冲垫作用,可有效缓解症状,改善关节功能,减慢病情的进展。透明质酸钠作为一种治疗骨关节炎的药物已获得了广泛的应用。

黄原胶具有高 M_r 、高黏弹性的特点,与透明质酸钠的性质相近,关节腔内注射黄原胶可起到润滑和缓冲应力作用,近年来已被用于实验性骨关节炎的治疗。韩冠英等^[6,27]以注射级黄原胶为原料,制备了黄原胶注射液,通过体内和体外实验评价了黄原胶注射液(1%)对实验性兔骨关节炎的疗效和作用机制。结果表明,黄原胶可保护关节软骨,有效缓解症状,治疗效果优于透明质酸钠。在白介素

(interleukin, IL) 1β 诱导的体外培养的兔关节软骨细胞损伤模型中,黄原胶能够保护软骨细胞,降低关节滑液中 IL- 1β 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF) α 、一氧化氮和前列腺素 E2 的含量和关节软骨中基质金属蛋白酶 1、3 的含量,减轻 IL- 1β 对软骨细胞的损伤。在 100 ~ 1 000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内,黄原胶对软骨细胞的保护效果呈剂量依赖性。在硝普钠诱导的兔软骨细胞凋亡模型中,黄原胶能够显著逆转硝普钠诱导的细胞增殖,抑制细胞早期凋亡率,减轻线粒体膜电位的下降,降低软骨细胞培养上清液中前列腺素 E2 的含量,抑制硝普钠诱导的软骨细胞凋亡^[28]。邵华荣等^[29]制备了大鼠骨关节炎模型,评价了黄原胶对关节软骨的保护作用及其对疼痛的缓解作用。认为关节腔内注射黄原胶,可减轻软骨的降解,明显缓解碘乙酸钠所致的骨关节炎疼痛,其作用时间长于透明质酸钠,具有较长效的缓解疼痛的作用。对兔膝关节滑液黏弹性的研究表明,关节腔注射黄原胶能够增加关节滑液的黏度,显著改善其关节滑液的流变特性,其对关节滑液黏弹性的改善作用可持续超过 168 h,作用效果及持续时间均优于透明质酸钠^[30]。

研究结果表明,与透明质酸钠相比,黄原胶稳定性更好,不易被体内的酶和自由基降解,在关节腔存留时间较长,其有望成为一种更长效的治疗骨关节炎的新药。

4 黄原胶的免疫调节作用研究

多糖具有广泛的生物活性,如免疫调节、抗炎、抗氧化、抗凝血、抗病毒、抗肿瘤等作用^[31-32],其中多糖的免疫调节和抗肿瘤活性最令人瞩目。已经投入临床研究和使用的药物,如香菇多糖、人参多糖、黄芪多糖等,主要通过对机体的免疫增强作用以及与传统化疗药物联合用药的协效作用等发挥其抗肿瘤活性^[33]。目前,对多糖类生物资源的挖掘正逐渐成为获得新活性产物及进行新药研发的重要途径之一,具有广阔的市场需求和较大的开发潜力。

1983 年, Ishizaka 等^[34]研究了黄原胶对体外培养的小鼠淋巴细胞的作用,发现黄原胶诱导体外培养的小鼠脾淋巴细胞和胸腺细胞 DNA 合成显著增加,刺激 B 细胞中多克隆抗体 IgM 和 IgG 的产生。黄原胶诱导小鼠淋巴细胞产生多克隆抗体的能力与脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)一样有效。最

近,Takeuchi 等^[35]研究认为黄原胶具有抗肿瘤活性。经黄原胶灌胃后的荷 B16Kb 黑色素瘤小鼠,其肿瘤生长受到抑制,生存时间延长,自然杀伤细胞(natural killer cell)活性增高,CD8 T 细胞的肿瘤特异性细胞毒性作用增强。体外实验表明,黄原胶能够诱导体外培养的巨噬细胞产生高水平的 TNF- α 和 IL-12,其对巨噬细胞的作用依赖髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88),主要是通过识别 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)起作用。这表明黄原胶可通过对机体的免疫增强作用而发挥其抗肿瘤活性。在此基础上,Bacelo 等^[36]将黄原胶用作免疫佐剂,制备了抗钩端螺旋体病(Leptospirosis)的亚单位疫苗,结果表明,黄原胶能够显著增强该疫苗的免疫原性。其安全稳定,在体内可生物降解,组织相容性较好,避免了传统的人用疫苗佐剂铝盐易在注射部位沉积所带来的问题,具备开发成新型免疫佐剂的潜力。

5 展望

黄原胶本身具有的优良理化特性,使其在生物医药方面的应用存在较大潜力,具备进一步开发利用的价值。以往由于黄原胶具有很高的 M_r 和溶液黏度,精制过程存在困难,难以得到高纯度的产品,使其在医药领域的应用受到限制,主要用作药用辅料。目前,随着黄原胶精制技术的进步,已经将黄原胶纯化至注射级,黄原胶在医药领域中的应用已不断得到开发,其应用价值及用途正在逐步扩大。今后需继续研究黄原胶在体内应用的安全性,评价其长期毒性,开展对不同 M_r 黄原胶生物活性的研究,探索黄原胶在体内应用的免疫调节及抗肿瘤活性,为将其开发成可供体内注射使用的药物奠定基础,进一步拓展黄原胶的应用范围。

参考文献:

- [1] Eren NM, Santos PH, Campanella O. Mechanically modified xanthan gum: Rheology and polydispersity aspects [J]. Carbohydr Polym, 2015, 134: 475-484. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.07.092.
- [2] Gunasekar V, Reshma KR, Treasa G, et al. Xanthan from sulphuric acid treated tapioca pulp: Influence of acid concentration on xanthan fermentation [J]. Carbohydr Polym, 2014, 102: 669-673. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.11.006.
- [3] Niknezhad SV, Asadollahi MA, Zamani A, et al. Production of xanthan gum by free and immobilized cells of *Xanthomonas campestris* and *Xanthomonas pelargonii* [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 82: 751-756. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.10.065.
- [4] Kool MM, Gruppen H, Sworn G, et al. The influence of the six constituent xanthan repeating units on the order-disorder transition of xanthan [J]. Carbohydr Polym, 2014, 104: 94-100. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.12.073.
- [5] Moffat J, Morris VJ, Al-Assaf S, et al. Visualisation of xanthan conformation by atomic force microscopy [J]. Carbohydr Polym, 2016, 148: 380-389. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.078.
- [6] Han G, Wang G, Ling P, et al. Preparation of xanthan gum injection and its protective effect on articular cartilage in the development of osteoarthritis [J]. Carbohydr Polym, 2012, 87(2): 1837-1842.
- [7] Maphalla TG, Emmambux MN. Functionality of maize, wheat, teff and cassava starches with stearic acid and xanthan gum [J]. Carbohydr Polym, 2016, 136: 970-978. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.09.004.
- [8] Li R, Feke DL. Rheological and kinetic study of the ultrasonic degradation of xanthan gum in aqueous solution: Effects of pyruvate group [J]. Carbohydr Polym, 2015, 124: 216-221. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.02.018.
- [9] 邵华荣. 关节腔注射黄原胶动物体内药代动力学研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [10] Cheong KL, Wu DT, Zhao J, et al. A rapid and accurate method for the quantitative estimation of natural polysaccharides and their fractions using high performance size exclusion chromatography coupled with multi-angle laser light scattering and refractive index detector [J]. J Chromatogr A, 2015, 1400: 98-106. DOI: 10.1016/j.chroma.2015.04.054.
- [11] Davies DJ, Su Z, Clancy MT, et al. Near-Infrared spectroscopy in the monitoring of adult traumatic brain injury: a review [J]. J Neurotrauma, 2015, 32(13): 933-941. DOI: 10.1089/neu.2014.3748.
- [12] Othman N S, Févotte G, Peycelon D, et al. Control of polymer molecular weight using near infrared spectroscopy [J]. AIChE journal, 2004, 50(3): 654-664. DOI: 10.1002/aic.10059.
- [13] Dong Q, Zang H, Liu A, et al. Determination of molecular weight of hyaluronic acid by near-infrared spectroscopy [J]. J Pharm Biomed Anal, 2010, 53(3): 274-278. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.05.031.
- [14] Song Z, Ling P, Zang H, et al. Development, validation and influence factor analysis of a near-infrared method for the molecular weight determination of xanthan gum [J]. Carbohydr Polym, 2015, 115: 582-588. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.08.079.

- [15] The United States Pharmacopoeia Commission Inc. The United States Pharmacopoeia - National Formulary[S]. (USP35-NF30). Rockville, Md; the United States Pharmacopoeia Convention, Inc, 2012; NF30, 2012; 2017-2018.
- [16] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 2010 年版二部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:1219.
- [17] Mikac U, Sepe A, Baumgartner S, et al. The influence of high drug loading in xanthan tablets and media with different physiological pH and ionic strength on swelling and release[J]. Mol Pharm, 2016, 13(3): 1147-1157. DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.5b00955.
- [18] Maiti S, Mukherjee S. Controlled drug delivery attributes of co-polymer micelles and xanthan-O-carboxymethyl hydrogel particles[J]. Int J Biol Macromol, 2014, 70: 37-43. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.06.015.
- [19] Kuo SM, Chang SJ, Wang HY, et al. Evaluation of the ability of xanthan gum/gellan gum/hyaluronan hydrogel membranes to prevent the adhesion of postrepaired tendons[J]. Carbohydr Polym, 2014, 114: 230-237. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.07.049.
- [20] Kulkarni N, Wakte P, Naik J. Development of floating chitosan-xanthan beads for oral controlled release of glipizide[J]. Int J Pharm Investig, 2015, 5(2): 73-80. DOI:10.4103/2230-973X.153381.
- [21] Maity S, Sa B. Ca-carboxymethyl xanthan gum mini-matrices; Swelling, erosion and their impact on drug release mechanism[J]. Int J Biol Macromol, 2014, 68: 78-85. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.04.036.
- [22] Lungan MA, Popa M, Racovita S, et al. Surface characterization and drug release from porous microparticles based on methacrylic monomers and xanthan[J]. Carbohydr Polym, 2015, 125: 323-333. DOI:10.1016/j.carbpol.2015.02.058.
- [23] Groves E, Chaw CS. Incorporation of calcium salts into xanthan gum matrices: hydration, erosion and drug release characteristics[J]. Drug Dev Ind Pharm, 2015, 41(10): 1608-1616. DOI: 10.3109/03639045.2014.976573.
- [24] Contreras-Rubio AY, Baiza-Durán L, Olvera-Montao O, et al. Histopathological changes on the ocular surface of New Zealand white rabbits after instillation of a fixed combination of 0.09 % xanthan gum and 0.1 % chondroitin sulfate [J]. Int Ophthalmol, 2016. DOI: 10.1007/s10792-016-0192-9.
- [25] Kocatürk T, Gengnül A, Balica F, et al. Combined eye gel containing sodium hyaluronate and xanthan gum for the treatment of the corneal epithelial defect after pterygium surgery [J]. Clin Ophthalmol, 2015, 9: 1463-1466. DOI:10.2147/OPTH.S85638.
- [26] Loeser RF, Collins JA, Diekmann BO. Ageing and the pathogenesis of osteoarthritis[J]. Nat Rev Rheumatol, 2016, 12(7): 412-420. DOI:10.1038/nrrheum.2016.65.
- [27] 韩冠英. 黄原胶注射液的研制及其对实验性骨关节炎疗效和作用机制的研究[D]. 济南: 山东大学, 2012.
- [28] Chen Q, Mei X, Han G, et al. Xanthan gum protects rabbit articular chondrocytes against sodium nitroprusside-induced apoptosis in vitro[J]. Carbohydr Polym, 2015, 131: 363-369. DOI:10.1016/j.carbpol.2015.06.004.
- [29] Shao H, Han G, Ling P, et al. Intra-articular injection of xanthan gum reduces pain and cartilage damage in a rat osteoarthritis model [J]. Carbohydr Polym, 2013, 92(2): 1850-1857. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.11.051.
- [30] Shao HR, Jin Y, Han GY, et al. Viscosupplementation of synovial fluid with xanthan gum for treatment of osteoarthritis and its clearance kinetics in the rabbit knee joint [J]. Biorheology, 2014, 51(4-5): 305-314. DOI: 10.3233/BIR-14013.
- [31] Zhang X, Qi C, Guo Y, et al. Toll-like receptor 4-related immunostimulatory polysaccharides: Primary structure, activity relationships, and possible interaction models [J]. Carbohydr Polym, 2016, 149: 186-206. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.04.097.
- [32] Hu J, Qiu L, Wang X, et al. Carbohydrate-based vaccine adjuvants-discovery and development [J]. Expert Opin Drug Discov, 2015, 10(10): 1133-1144. DOI:10.1517/17460441.2015.1067198.
- [33] Martínez AM, Benito M, Pérez E, et al. The role of anionic polysaccharides in the preparation of nanomedicines with anticancer applications [J]. Curr Pharm Des, 2016, 22(22): 3364-3379. DOI: 10.2174/1381612822666160128145125.
- [34] Ishizaka S, Sugawara I, Hasuma T, et al. Immune responses to xanthan gum. I. The characteristics of lymphocyte activation by xanthan gum[J]. Eur J Immunol, 1983, 13(3): 225-231. DOI:10.1002/eji.1830130309.
- [35] Takeuchi A, Kamiryou Y, Yamada H, et al. Oral administration of xanthan gum enhances antitumor activity through Toll-like receptor 4[J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9(13-14): 1562-1567. DOI: 10.1016/j.intimp.2009.09.012.
- [36] Bacelo KL, Hartwig DD, Seixas FK, et al. Xanthan gum as an adjuvant in a subunit vaccine preparation against leptospirosis[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 636491. DOI:10.1155/2014/636491.

(收稿日期 2016-06-27)