

虾青素结构修饰的研究进展

胡金金, 靳远祥, 傅正伟*

(浙江工业大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310014)

摘 要: 虾青素是一种天然类胡萝卜素, 具有着色、抗氧化、光保护、增强免疫、促进繁殖等多种生物学功能, 在食品和医药领域被广泛应用。虾青素生物学功能的发挥和其分子结构存在紧密的联系。本文概括了虾青素的各种异构体及其对生物学功能发挥的差异, 并论述了近年来在提高其水相分散度, 增加其稳定性等方面的结构修饰的研究进展。

关键词: 虾青素; 水溶性; 水相分散度; 立体异构体; 几何异构体

Research Recently in Structure Modification of Astaxanthin

HU Jin-jin, JIN Yuan-xiang, FU Zheng-wei*

(College of Biological and Environmental Engineering, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: Astaxanthin is a kind of carotenoid with great potential applications in pigmentation, anti-oxidant, UV-light protection and enhancing immunity etc., and widely used in food and pharmaceutical areas. Astaxanthin exists in various forms and any difference in the structure will change the astaxanthin's bioavailability in animals. The research progress on astaxanthin's molecular structure modification to increase its water dispersibility and stability for enhancing physiological function in recent years had been reviewed in this paper.

Key words: astaxanthin; aqueous solubility; water dispersibility; stereoisomers; geometric isomers

中图分类号: R151

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)12-0531-04

虾青素(astaxanthin, 3,3'-二羟基-4,4'-二酮- β , β' 胡萝卜素), 属于酮式类胡萝卜素, 分子式为 $C_{40}H_{52}O_4$, 相对分子量为596.86。1933年, Kuhn等从虾、蟹中提取到一种紫红色的结晶并将其命名为酯。但此后于1938年发现该类物质不是酯, 而是一种新的与虾红素有密切关系的另一种类胡萝卜素, 随后将其命名为虾青素, 并确定其化学结构(图1)。

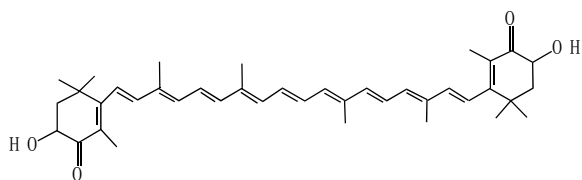


图1 虾青素的结构式

Fig.1 Structure of astaxanthin

因虾青素具有着色、抗氧化、光保护、促进繁殖等多种生物学功能, 近年来甚受国内外的食品、医药、化妆品、水产养殖等行业的关注。研究发现, 虾青素的长共轭双键链, 终端环结构上的羟基和不饱和酮基,

以及羟基和酮基所构成的 α -羟基酮是虾青素具有各种生物学功能的主要原因^[1]。Miki发现, 虾青素淬灭单线态氧和捕捉自由基的作用是 β -胡萝卜素的10多倍, VE的100多倍, 具有“超级VE”的美称^[2]。

然而, 大多数类胡萝卜素的低水溶性限制了其在水相溶液中的研究^[3], 同时在动物体内的低吸收和低利用率也降低了虾青素的生物学功能^[4]。这使得提高虾青素水溶性或者水相溶液中的分散度, 以及促进其在动物体内的吸收等成为虾青素研究的关键。鉴于虾青素的各种生物学功能与其结构的密切关系, 因此目前国际上已经对虾青素的各种立体异构体, 几何异构体, 终端环羟基的酯化程度及其在生物体内的作用效果进行了大量的研究^[5-7], 并设想了对虾青素进行酯化^[8-11]、或结合载体^[12-13]、或包膜^[3, 14-15]等结构修饰的方法, 并取得了一定的成果。

1 虾青素的化学结构异构体

1.1 立体异构体

收稿日期: 2006-08-27

* 通讯作者

基金项目: 浙江省科技厅重点项目(2004C14003)

作者简介: 胡金金(1981-), 女, 硕士研究生, 研究方向为分子营养学。

虾青素的化学结构中含有两个手性中心, 分别位于两端环结构中的C-3和C-3'处。两个手性碳原子C-3、C-3'都能以R或S的形式存在, 这样就产生3种立体异构体: 3S、3'S、3S、3'R和3R、3'R(图2), 也即三种不同的旋光异构体。

用不同的生产技术得到的虾青素, 其立体异构体是不同的。雨生红球藻生物合成的虾青素多数为3S, 3'S异构体^[16], 红发夫酵母菌生物合成的虾青素多数为3R, 3'R异构体^[17](3S, 3'S异构体的对映体), 化学合成的虾青素有3S, 3'S异构体、3R, 3'R异构体和3R, 3'S异构体。

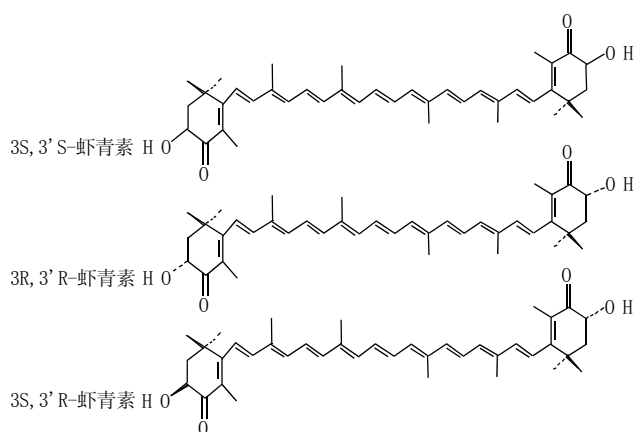


图2 虾青素的三种不同旋光异构体

Fig.2 Three different optically active isomer of astaxanthin

1.2 几何异构体

虾青素分子的线性部分含有9个双键, 根据C-C双键结合的原子排列方式不同, 虾青素拥有全E、(9Z)、(13Z)、(15Z)、(9Z、13Z)、(9Z、15Z)、(13Z、15Z)和(9Z、13Z、15Z)等8种几何异构体, 其中全E式结构因空间位阻最小而最稳定^[1-18]。

虾青素的各种立体异构体和几何异构体在动物体内被选择性吸收和沉积。在一个实验研究中, 分别用全E式(虾青素36.9mg/kg, 全E 97%、9Z 0.4%、13Z 1.5%、其他1.1%)和E/Z混合式(虾青素35.4mg/kg, 全E 64%、9Z 18.7%、13Z 12.3%、其他2.0%)的合成游离虾青素(各种立体异构体的比例为:n(3S, 3'S):n(3R, 3'S):n(3R, 3'R)=1:2:1)喂养虹鳟鱼(*Oncorhynchus mykiss*)^[5]。连续喂养69d后, 对两组的虾青素积累进行了比较, 发现两组总虾青素积累无明显差异, 然而两实验组全E中, 9Z和13Z异构体各成分在血液内的所占含量分别为93.2%、2.2%和4.6%与91.9%、2.7%和5.4%; 在肝脏中分别为58.7%、2.3%和38.9%与48.1%、2.6%和49.3%; 在胃肠中分别为82.3%、4.5%和13.0%与68.7%、12.0%和19.3%; 其他各种几何异构体的成分在各组织中无太大区别。此外, 虾青素立体异构体n(3S, 3'S):n(3R, 3'S):n(3R, 3'R)的比例在粪便、血液、肝

和肉中为1:2:1, 在皮肤中为1:2:2, 在肾中为1:2:3, 这说明几何异构体和立体异构体在不同的组织中分布不相同。在另一实验研究中, 给3位中年吸烟男子一次性口服100mg虾青素混合物(分别为74%全E、9%9Z和17%13Z的合成游离虾青素)(立体异构体的比例均为n(3S, 3'S):n(3R, 3'S):n(3R, 3'R)=1:2:1)^[6], 发现服用6h后, 血液中全E、9Z和13Z虾青素所占含量分别变为49.4%、13.2%, 和37.4%, 显示了13Z虾青素易在血液中累积, 也说明人体血液对虾青素的吸收与其几何构象有关。

1.3 游离虾青素、单酯化虾青素和双酯化虾青素

根据虾青素两终端环上羟基的酯化程度, 自然界虾青素以游离, 单酯化或者双酯化三种状态存在。随着酯化程度的加深, 虾青素体现为疏水性增强^[9], 且更容易被动物组织所吸收利用^[8]。在对龙虾等动物的研究中, 就证实酯化虾青素比游离虾青素容易被吸收并与外骨骼结合, 从而使动物有效着色^[19]。艳丽的磷虾中也含有更多虾青素二酯^[20]。如目前已经成功合成的虾青素二赖氨酸四氯化氢盐(Lys2AST)^[10-11]其水相溶液中的浓度达到了181.6mg/ml, 远大于游离虾青素的浓度。酯化后的虾青素能更大程度的与体内蛋白结合, 提高血液和各组织中游离虾青素的浓度, 促进清除氧自由基和防止脂质过氧化作用。实验还发现虾青素二钠二琥珀酸盐衍生物(Cardax™)在心脏保护和心肌拯救方面的作用也显著高于游离虾青素^[21]。

2 虾青素的结构修饰研究

如前所述, 虾青素是一种有强氧化性的类胡萝卜素, 但由于它是一种亲脂性化合物, 限制了它在水相溶液中的单线态氧的淬灭、直接捕获活性自由基以及抑制脂质过氧化等作用^[3], 同时这也限制了虾青素在动物体内的运输以及与体内蛋白的结合, 抑制了虾青素的有效利用。而且, 由于虾青素的强抗氧化性等特点, 使得虾青素易被氧化和降解, 也限制了虾青素的实验研究。再者, 虾青素易集结限制其在水相溶液中的分散, 影响其作用的发挥^[22]。为了促进虾青素作用的研究, 国内外研究者已经设想了很多方法, 现分别将其概括为以下几方面。

2.1 与亲水性脂肪酸的酯化结合

通过虾青素与各种亲水性脂肪酸酯化来合成亲水性或水相分散度较高的虾青素双酯结构的方法, 引起了研究者的重视。如HBI公司合成的虾青素二钠二琥珀酸盐衍生物(Cardax™)^[8-9], 水相溶液中的分散度为8.64mg/ml, 这使得虾青素非肠胃吸收实验得以进行, 并且在清除超氧阴离子、与蛋白结合、促进血液和体内虾青素浓度及心脏保护等方面的作用都明显超过未处理的虾青素^[23]。而且该公司还分别对Cardax™进行

与氨基酸^[24]和磷脂^[25]的结合,其水相分散度分别为181.6mg/ml和60mg/ml。该衍生物与人血清蛋白(HSA)的蛋白配位基结合率达到13:1,远远超过未处理虾青素的1:1^[26]。此外,Cardax™在小鼠胚胎纤维原细胞C3H/10T1/2细胞的体外实验结果显示可以明显提高间隙连接蛋白Cx43的表达及其免疫反应性^[27]。

目前已经合成的还有虾青素二赖氨酸四氯化氢盐衍生物(Lys2AST)^[10-11],和虾青素甘油和聚三梨醇酯衍生物^[11]等。在虾青素甘油和聚三梨醇酯衍生物的合成中发现衍生物的水相分散度与结合脂肪酸的亲水性存在正向相关性^[11]。

2.2 与两亲分子的酯化结合

由于类胡萝卜素通常与细胞膜的磷脂双分子层进行结合后,再通过改变膜通透性进行抗氧化作用^[15],因此类胡萝卜素与细胞膜的结合非常重要。目前普遍采用的是将类胡萝卜素结合到磷脂等两亲分子上^[12-13],如在一项溶血磷脂质不饱和类胡萝卜素衍生物的研究中,就是将不饱和类胡萝卜素作为溶血磷脂质的乙酰部分与溶血磷脂质进行结合成衍生物^[28],结果显示类胡萝卜素水相分散度显著增强,其集合体的半径为纳米级,且表面特性与其他溶血磷脂质类似物相似,因此易被动物体吸收消化。

2.3 微囊化

正如绝大多数的类胡萝卜素一样,虾青素高度不饱和,在制备和保存过程中容易被热降解以及氧化,导致其生物功能无法达到预期的效果。通常大多数类胡萝卜素以全E形式存在^[29],在较高温度或光照条件下,容易异变为Z式结构^[30]。因此为了保护其不被氧化降解,研究者们设想各种微囊化方法^[3,14-15],如淀粉、明胶微囊化等,但是存在类胡萝卜素损失和不稳定等缺点,目前比较成功的是壳聚糖微囊化技术^[31]。

3 结 语

虾青素作为一种强抗氧化剂,在机体内有着丰富的生物学功能。因此对它进行研究开发,必将带动我国的医药保健品、水产养殖业以及家禽业等各方面的发展,大大提高国民生产总值,改善人民的生活水平。然而由于虾青素水溶性低,使得它在动物体内无法顺利的运输,导致它在动物体内的吸收率和生物利用度降低;同时也由于虾青素的低水溶性,使得它在各种水相溶液中的研究受到限制,其次由于虾青素的强氧化性导致其非常容易被降解及氧化,从而降低在研究中的效果。这些使得对虾青素进行适当的结构修饰和改造增加其水溶性或稳定性显得尤为必要和重要。

目前研究人员正努力从各方面加大对虾青素结构修饰方面的研究,而给虾青素进行适当的结构修饰具有两

大优势。其一,适当的结构修饰能大大提高虾青素的疏水性,使其在水溶性溶液中的研究不受限制。其二,适当的结构修饰能提高虾青素与蛋白的结合能力,使其能在较少用量的基础上更大程度的在机体内积累,从而发挥更强的生物学功能。虾青素结构修饰使得虾青素在动物体内生物学功能的研究更为方便,同时也可以降低虾青素在动物体内的用量。因此,对虾青素结构修饰的研究将是今后研究的一个热点。

参考文献:

- [1] BRITTON G. Structure and properties of carotenoids in relation to function[J]. FASEB J, 1995(9): 1551-1558.
- [2] MIKI W. Biological functions and activities of animal carotenoids[J]. Pure Appl Chem, 1991, 63: 141-146.
- [3] LOCKWOOD S F, MALLEY S, MOSHER G L, et al. Improved aqueous solubility of crystalline astaxanthin (3,3'-dihydroxy-beta, Beta-carotene-4,4'-dione) by cyclodextrin (sulfolobus cyclodextrin) [J]. J Pharm Sci, 2003, 92: 922-926.
- [4] BOILEAU T W, BOILEAU A C, ERDMAN J W. Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2002, 227: 914-919.
- [5] MARIANNE O, BJORN B, SYNNOVE L J. Accumulation of astaxanthin all E, 9Z and 13Z geometrical isomers and 3 and 3' RS optical isomers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is selective[J]. J Nutr, 1999, 129: 391-398.
- [6] MARINNE O, BJERKENG B, LIAAEN-JENSEN S. Plasma appearance and distribution of astaxanthin E/Z and R/S isomers in plasma lipoproteins of men after single dose administration of astaxanthin[J]. Nutr Biochem, 2000, 11: 482-490.
- [7] BJORN B, FOLLING M, LAGOCKI S, et al. Bioavailability of all-E-astaxanthin and Z-isomers of astaxanthin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Aquaculture, 1997, 157: 63-82.
- [8] SHOWALTER L A, OSTERLIE M. Plasma appearance and tissue accumulation of non-esterified, free astaxanthin in C57BL/6 mice after oral dosing of a disodium disuccinate diester of astaxanthin (*Heptax*™) [J]. Comp Biochem Phys C, 2004, 137: 227-236.
- [9] CARDOUNEL A J, DUMITRESCU C, ZWEIER J L, et al. Direct superoxide anion scavenging by a disodium disuccinate astaxanthin derivative: relative efficacy of individual stereoisomers versus the statistical mixture of stereoisomers by electron paramagnetic resonance imaging [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 307: 704-712.
- [10] ZSILA F, FITOS I, BIKADI Z, et al. *In vitro* plasma protein binding and aqueous aggregation behavior of astaxanthin diisuccinate tetrahydrochloride [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14: 5357-5366.
- [11] JOHANNA M O, LIQNELL A, PETTERSSON A, et al. Oral bioavailability of the antioxidant astaxanthin in humans is enhanced by incorporation of lipid based formulations [J]. Eur J of Pharm Sci, 2003, 19: 299-304.
- [12] NAESS S N, ARNLJOT E, BENTE J, et al. Hydrophilic carotenoids: surface properties and aggregation of crocins as a biosurfactant [J]. Helvetica Chimica Acta, 2006, 89: 45-53.
- [13] FOSS B J, SLIWKA H R, PARTAI V S, et al. Hydrophilic carotenoids: surface properties and aqueous aggregation of a rigid, long-chain, highly unsaturated dianionic bolaamphiphile with a carotenoid spacer [J]. Chem Phys Lipids, 2005, 135: 157-167.
- [14] BERTRAM J S. Carotenoids and gene regulation [J]. Nutrition Reviews,

- 1999, 57: 182-191.
- [15] GOTO S, KOGURE K, ABE K, et al. Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin[J]. *Biochimica & Biophysica Acta*, 2001, 1512: 251-258.
- [16] RENSTROM B, LIAAE-JENSEN S. Fatty acids of some esterified carotenols[J]. *Comp Biochem. Physiol B, Comp Biochem*, 1981, 69: 625-627.
- [17] ANDREWES A G, STARR M P. (3R, 3' R)-Astaxanthin from the yeast *Phaffa rhodozyma*[J]. *Phytochem*, 1976, 15: 1009-1011.
- [18] KRINSKY N I, MARK D R, GARRY J H, et al. Structural and geometrical isomers of carotenoids in human plasma[J]. *J Nutr*, 1990, 120 (12): 1654-1662.
- [19] WADEA N, GOULTER K C, WILSON K J, et al. Esterified astaxanthin levels in lobster epithelia correlate with shell colour intensity: Potential role in crustacean shell colour formation[J]. *Comp Biochem Phys B*, 2005, 141: 307-313.
- [20] YAMAGUCHI K, MIKI W, TORIU N, et al. The composition of carotenoid pigments in the antarctic krill *Euphausia superba*[J]. *Bull Jap Soc Sci Fish*, 1983, 49: 1411-1415.
- [21] GARRETT J G, SAMUEL F L. Cardioprotection and myocardial salvage by a disodium disuccinate astaxanthin derivative (Cardax™)[J]. *Life Sci*, 2004, 75: 215-224.
- [22] SIMONYI M, et al. Supramolecular exciton chirality of carotenoid aggregates[J]. *Chirality*, 2003, 15: 680-698.
- [23] GROSS G J, ZSOUT B, FERENC Z, et al. Cardioprotection and myocardial salvage by a disodium disuccinate astaxanthin derivative (Cardax™)[J]. *Life Sci*, 2004, 75: 215-224.
- [24] JACKSON H L, ARTURO J C, JAY L Z, et al. Synthesis, characterization, and direct aqueous superoxide anion scavenging of a highly water-dispersible astaxanthin-amino acid conjugate[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 3985-3991.
- [25] FOSS B J, SLIWKA H R, PARTALI V, et al. Direct superoxide anion scavenging by a highly water-dispersible carotenoid phospholipid evaluated by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004, 14: 2807-2812.
- [26] ZSILA F, SIMONYI M, LOCKWOOD S F. Interaction of the disodium disuccinate derivative of meso-astaxanthin with human serum albumin: from chiral complexation to self-assembly[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2003, 13: 4093-4100.
- [27] LAURA M H, LOCKWOOD S, BERTRAM J. Upregulation of connexin 43 protein expression and increased gap expression and increased gap junctional communication by water soluble disodium disuccinate astaxanthin derivatives[J]. *Cancer Lett*, 2004, 211: 25-37.
- [28] STINE N N, ARNLJOT E, FOSS B J, et al. Hydrophilic carotenoids: surface properties and aggregation behavior of a highly unsaturated carotenoid lysophospholipid[J]. *Chem Phys Lipids*, 2005, 134: 85-96.
- [29] URICH K. Comparative animal biochemistry[M]. Springer, Germany: Klaus Ulrich Co., 1994: 624-625.
- [30] SWEENEY J P, ANN C M. Liver storage of vitamin A in rats fed carotene stereoisomers[J]. *J Nutr*, 1973, 103: 20-25.
- [31] HIGUERA C I, FELIX L V, GOYCOOLEA F M, et al. Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix[J]. *Carbohydr Polym*, 2004, 56: 41-45.



俄研制出激光酒精检测仪

如何在车水马龙的道路上查处酒后驾车的司机一直是困扰交管部门的一个难题。俄罗斯研究人员研制出一种激光酒精检测仪，有望为交管部门处理此类交通违章增添一件利器。

据《俄罗斯报》网络版日前报道，圣彼得堡“激光系统”公司研究人员发明的这种仪器，可对司机是否饮酒进行远距离探测。其工作原理是仪器发射一束专门的激光，透过挡风玻璃对车内空气进行检测，如果空气中酒精含量超过 1×10^{-6} ，仪器会根据反馈信号报警。

每种物质都有自己独特的光谱，而激光具有单色性好和方向性强等特点，是利用光谱技术探测物质成分的良好光源。研究人员指出，这种仪器可以很容易鉴别出车内空气中的酒精浓度，因此司机无法寻找借口逃避处罚。不过，如果车内乘客喝过酒，空气中酒精浓度超标，仪器也会报警，交警需对司机做进一步检查。

激光酒精检测仪一问世，即受到俄交管部门的极大关注。

研究发现：睡前喝一勺蜂蜜可缓解儿童咳嗽

美国一项最新研究发现，睡前喝一勺蜂蜜可以缓解儿童咳嗽并有助于他们的睡眠。

据美国媒体12月3日报道，研究人员从宾夕法尼亚州的一家医院征集到105名患有上呼吸道感染的儿童作为实验对象后，给每个孩子的父母分发一个纸包，里面装的内容不同，一些袋子里是空的，一些袋子里装有适龄剂量、含有美沙芬的咳嗽药，还有一些袋子里装的是同等剂量的蜂蜜。

对孩子们分别进行这三种“治疗”后，父母们需根据研究人员提供的7个等级标准，分别对孩子们的睡眠状况以及他们在睡觉前后的咳嗽症状进行打分。

实验结果显示，蜂蜜疗法得分最高，这表明这一民间疗法比咳嗽药或干脆不治疗的效果更好。研究人员指出，蜂蜜之所以有这样的“奇效”也许是因为它覆盖红肿的咽喉能缓解发炎的症状。

儿科医生对该研究表示欢迎，称他们以后会建议父母们尝试蜂蜜疗法。但与此同时，他们也指出，蜂蜜疗法不适用于1岁以下的幼儿，因为他们的免疫系统仍未成熟，存在发生罕见但致命的肉毒杆菌中毒的危险。