

角黄素及其在医学中的应用

王艳^{1*} 杨少丽¹ 苗凤萍¹ 秦松^{2*}

(1. 中国科学院烟台海岸带可持续发展研究所 烟台 264003)

(2. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

摘要: 角黄素是一种非维生素 A 源的酮式类胡萝卜素, 具有抗氧化、免疫促进及增强细胞间隙连接通讯等多种生物学活性。大量的流行病学调查, 组织培养, 动物试验及人体干预试验表明, 角黄素对多种癌症具有预防和治疗的功效。此外, 角黄素还能够提高免疫力, 保护皮肤和骨骼健康。目前市场上供应的角黄素产品主要通过有机化学合成制得。然而, 天然角黄素容易吸收并且不涉及化学工艺而更受消费者欢迎。近年来, 越来越多的产角黄素微生物菌株被分离和纯化, 使得天然角黄素有进一步扩大应用的潜力和发展前景。从发酵培养的细菌中提取角黄素具有菌体繁殖速度快, 生产周期短, 发酵工艺较为成熟等优势, 进行高细胞密度生产比较容易。因此, 国外各国均把利用微生物发酵技术合成天然角黄素作为主攻方向, 进行天然角黄素的研究与开发。在此, 就角黄素的理化性质、医学应用、天然角黄素研究与开发的最新研究进展进行阐述和讨论, 为我国角黄素的开发研究提供参考。

关键词: 角黄素, 医学应用, 类胡萝卜素

Canthaxanthin and Its Application in Medicine

WANG Yan^{1*} YANG Shao-Li¹ MIAO Feng-Ping¹ QIN Song^{2*}

(1. Yantai Institute of Coastal Zone Research for Sustainable Development, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003)

(2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Abstract: Canthaxanthin (4, 4'-diketo- β , β' -carotene) is a keto-carotenoid with strong antioxidant activity but no provitamin A activity. Canthaxanthin has potential and promising applications in human health and nutrition. The intake of canthaxanthin has proved to potentiate immune responses, enhance gap junctional communication and protect against skeletal diseases, UV-induced skin damage and some cancers. Synthetic canthaxanthin dominates the world market but recently interest in natural sources of the pigment has increased substantially. The major biological sources of canthaxanthin include crustacean and crustacean extracts, fungi, bacteria, yeasts and microalgae. Currently, only a few mutant strains of the bacteria are being considered or already being exploited for the production of high-value canthaxanthin, including *Brevibacterium* sp KY-4313, *Haloferax alexandrinus* sp. nov. TM, *Gordonia jacobaea* MV-26, *Dietzia natronolimnaea* HS-1. The current review summarized and discussed the general properties, the medicinal applications, bio-synthesis, and promising natural sources of canthaxanthin, as well as recent developments in the biotechno-

基金项目: 山东省科技发展计划(No. 2007GG2QT06020)

*通讯作者: 王艳 Tel: 0535-7112717; Fax: 0535-6910566; ✉: ywang@yic.ac.cn

秦松 Tel: 0532-82898500; ✉: sqin@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2008-02-01; 接受日期: 2008-07-09

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

logical production of canthaxanthin.

Keywords: Canthaxanthin, Medicinal applications, Carotenoids

角黄素(Canthaxanthin)是一种非维生素A源的酮式类胡萝卜素,呈艳丽红色,着色效果较强,所以最初在欧美一些国家是作为色素而被添加到水产和畜禽养殖动物的饲料中的^[1]。近年来,随着角黄素生理功能研究的深入和药理药效试验的逐步完善,角黄素在人类的高级营养保健品和医药品领域的应用潜力也初见端倪^[2]。随着角黄素在消费市场呈现出良好发展势头,其市场需求也在逐年递增。据商业通讯公司(Business Communications Company)一份最新的全球类胡萝卜素市场报告,2004年角黄素的市场规模高达1.48亿美元,预计其2009年的市场规模将增至1.56亿美元。

1 角黄素的理化性质

角黄素的化学系统名(IUPAC)是 β , β' -胡萝卜素-4,4'-二酮,属于酮式类胡萝卜素。分子式为

$C_{40}H_{52}O_2$, 相对分子质量为 564.9。纯角黄素是紫红色晶体,熔点约 $210^{\circ}C$ 。角黄素可溶于其它脂类和非极性溶剂中,而在水中是不溶的。

角黄素的化学结构是由 4 个异戊二烯单位以共轭双键型式联结,两端又有 2 个异戊二烯单位组成六元环结构,在六元环结构的 C_4, C_4' 位上含有氧功能团酮基,化学结构式见图 1。由于含有长的共轭不饱和双键系统,角黄素的性质不稳定,易于异构化和降解。光、热、氧化物很容易破坏角黄素的结构。角黄素与蛋白质结合,增加了色素对光的稳定性。

2 角黄素在医学中的应用

大量的流行病学调查,组织培养,动物试验及人体干预试验表明,角黄素对多种疾病具有预防和治疗的功效,这种作用与角黄素的抗氧化、免疫促进及增强细胞间隙连接通讯等多种生物学活性相关。

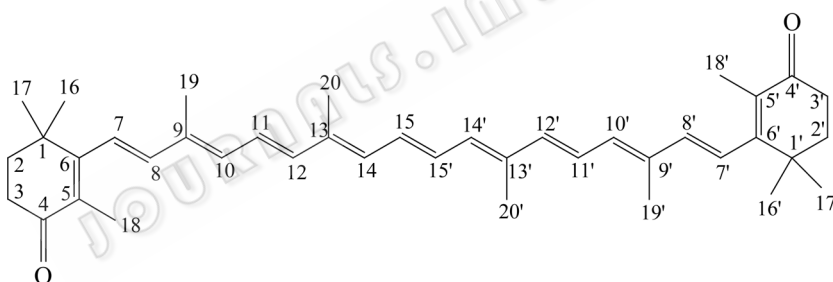


图 1 角黄素的分子结构

Fig. 1 Chemical structure of canthaxanthin

2.1 抗癌

Tanaka等用4-硝基喹啉-1-氧化物诱发雄性F344大鼠口腔癌后,通过100 ppm角黄素/kg饮用水饲喂角黄素,饲喂32周后发现角黄素对肿瘤增殖具有明显的抑制作用,能显著降低癌症发生率^[3]。Grubbs等研究发现,提前3周在饲料中补充角黄素,可使9,10-二甲基-1,2-苯并蒽诱发的乳房瘤的发病率降低65%,而且角黄素还能降低甲基亚硝基脲的致癌性,对减少甲基亚硝基脲诱发的乳房瘤细胞的数量和体积效果良好^[4]。此外,饲喂角黄素还能显著抑制胸腺瘤、黑素瘤、纤维肉瘤的发生,这种抑制作用的强弱与角黄素的饲喂剂量、饲喂时间以及实验小鼠的

性别直接相关^[5]。

2.2 抗氧化

角黄素是一种极好的光保护剂和抗氧化剂^[6]。从大量的临床试验表明,角黄素和 β -胡萝卜素的结合对治疗生血性原卟啉症(EPP)和复合光疾病(PMLE)病人比单独用 β -胡萝卜素好得多^[7]。Shih等研究发现,角黄素的摄入能增强谷胱甘肽过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等的活性,高效调控生物体内氧化-抗氧化系统的平衡,从而抑制胆固醇诱导的氧化压力^[8]。

2.3 提高免疫力

角黄素具有免疫调节活性,可作为人体中的免

疫调节化合物。角黄素主要是通过提高巨噬细胞的吞噬能力、促进淋巴细胞转化、增加淋巴细胞数、增强自然杀伤细胞活力来提高机体的免疫力^[9,10]。小鼠活体实验表明,将角黄素以 2 g/kg的比例掺入饲料中,饲喂小鼠 66 周,能明显提高小鼠血液中的T和B淋巴细胞数量^[9]。此外,角黄素还可增加瘤块中的胞毒巨噬细胞和T细胞的活性,维持抗原中的巨噬细胞受体^[10]。

2.4 保护皮肤健康

未加保护的皮肤过量暴露于阳光下会导致晒伤,从而引起光诱导氧化、炎症、免疫抑制、老化,甚至是皮肤细胞的癌变。临床前的研究表明典型的饮食抗氧化剂可以减轻这些损伤。口服角黄素对 9,10-二甲基-1,2-苯并蒽诱发的皮肤刺瘤具有明显的抑制作用^[11]。研究发现,角黄素对先天性的光照性皮肤病具有较好的疗效,尤其是对多形性日光疹的治疗。它能够阻止光诱导的皮肤癌和紫外线诱导的免疫抑制^[12]。

2.5 保护骨骼健康

裴凌鹏等研究发现, H₂O₂摄入会导致大鼠成骨细胞的氧化损伤。而角黄素可以有效地防御与降低 H₂O₂对成骨细胞的氧化损伤,进而通过淬灭自由基保护成骨细胞增殖,促进骨形成过程^[13]。裴凌鹏等的实验结果表明,随着成骨细胞膜被氧化,细胞膜影泡的流动性呈现下降趋势。细胞在 H₂O₂作用下发生的自由基损伤导致了膜的物理改变,流动性的下降便是一个重要指标。而角黄素防止成骨细胞膜脂质过氧化实验结果表明,添加一定量的角黄素可以部分修复羟自由基引发的膜损伤。从实验数据可以发现,受到氧化损伤后表征膜的流动性的几个参数量均发生变化,而经不同浓度的角黄素处理后,这些量逐步得到恢复。

3 角黄素的工业生产现状

目前市场上供应的角黄素产品主要通过有机化学合成制得。角黄素的化学合成有两条工艺路线,其一是全合成法^[14],该工艺碳链采用逐步延长法,主要通过Witting反应合成β-胡萝卜素,再进一步氧化成角黄素;另一种是β-胡萝卜素氧化法^[15],该工艺直接以β-胡萝卜素为原材料,通过添加氧化剂和催化剂来完成角黄素的合成。

化学合成角黄素的工艺复杂、难度高,最终导

致角黄素商品的价格昂贵(1300 美元/kg)而在应用上受到限制。此外,化学合成的角黄素与天然角黄素相比其生物效价低得多,而且在化学合成的过程中,角黄素容易被其它有害物质污染,还可能含有其它的非天然的异构体,因此出于安全的角度考虑,化学合成的角黄素在多种食品、化妆品及医药品等入用市场上的应用仍受到很大的限制,这也在一定程度上制约了角黄素的广泛应用。

4 天然角黄素的研究与开发

天然角黄素容易吸收并且不涉及化学工艺而更受消费者欢迎,近年来各国都已转向天然角黄素产品的开发。天然角黄素第一次是从可食的蘑菇(*Cantharellus cinnabarinus*)中分离出来的。在甲壳纲动物和各种鱼类中也均发现有角黄素。由于它们的角黄素含量低且变化大,直接从这些生物中分离纯化角黄素成本太高,因而基本不具有应用价值。近年来,日本、美国、埃及、伊朗和西班牙等国已相继从极端环境(如油田、盐场土壤等)中筛选、分离出了具有角黄素合成能力的非光合作用细菌菌种。从发酵培养的细菌中提取角黄素具有菌体繁殖速度快、生产周期短、发酵工艺较为成熟等优势,进行高细胞密度生产比较容易。因此,国外各国均把利用微生物发酵技术合成天然角黄素作为主攻方向,进行天然角黄素的研究与开发。

4.1 角黄素在生物体内的合成途径(图 2)

近年来,通过使用特异性抑制剂,已经阐明了角黄素的生物合成途径。角黄素合成途径一般由丙酮酸盐和 3-磷酸甘油醛从头合成,先形成五碳的异戊烯焦磷酸(IPP),再转化成同分异构体的二甲基丙烯焦磷酸(DMAPP)。DMAPP和IPP经三步缩合反应形成廿碳的GGPP。二分子的GGPP缩合形成四十碳的八氢番茄红素(Phytoene)。八氢番茄红素经 4 步脱氢去饱和反应形成番茄红素(Lycopene)。番茄红素进一步环化后形成β-胡萝卜素(β-Carotene)。β-胡萝卜素C₄, C_{4'} 位经过酮基化最终形成角黄素^[16]。

4.2 产角黄素的微生物物种

4.2.1 短杆菌突变体 *Brevibacterium* sp. KY-4313: 短杆菌 *B. sp.* 是从油田中分离出的利用烃类的短杆菌,其中突变体KY-4313 被认为是生产角黄素的最具潜力的菌种之一^[17]。KY-4313 最初是从日本的油田中分离出来的,它一直作为一个模型生物来研究角

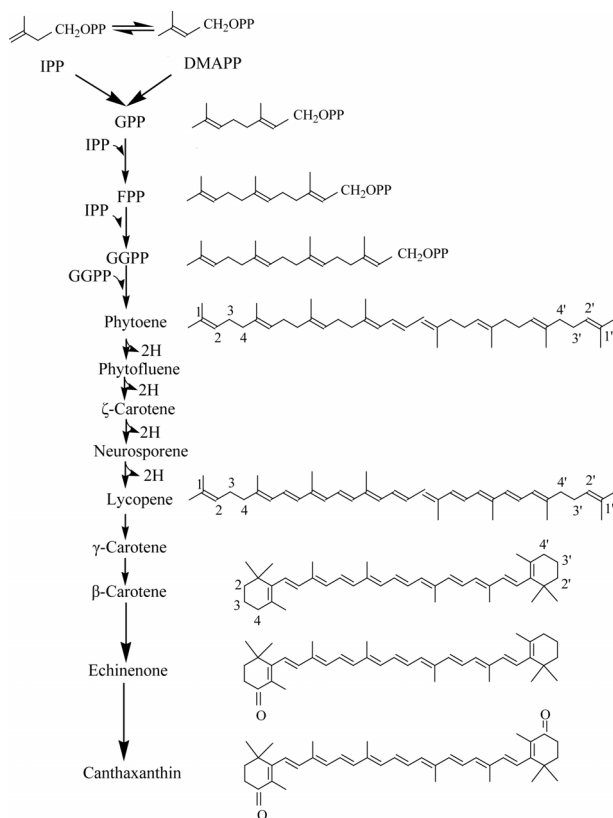


图2 角黄素在生物体内的合成途径

Fig. 2 The biosynthetic pathway of canthaxanthin

黄素的生物合成。目前主要通过3种方法来优化其角黄素的产量：高产突变株的筛选、在培养基上添加类胡萝卜素促进因子和刺激生长^[8,17]。据报道，KY-4313在含有富马酸5%、糖蜜4%、麦芽汁0.1%、蔗糖酯1%的培养基中生长，最后细胞中角黄素的含量可高达0.74 mg/g 干细胞(相当于9.3 mg/L)，生物量12.6 g/L^[17]。KY-4313虽是目前产角黄素量最高的微生物菌株，但水平仍不足用于实际生产中。

4.2.2 极端嗜盐细菌突变体 *Haloferax alexandrinus* sp. nov. TM: 极端嗜盐细菌突变体TM是1996年4月从埃及的一个海水蒸发池里的土壤样本中分离得到的^[18]，并被命名为*H. alexandrinus* sp. nov.。在含有酵母膏1%、酪蛋白氨基酸0.75%、氯化钠25%、硫酸镁4%、氯化钾0.2%的培养基中培养6 d后，突变株TM的角黄素的含量可达到0.7 mg/g 干细胞，但由于其生物量较低(3 g/L)，致使其单位体积内的角黄素产量(2 mg/L)不理想^[19]。尽管如此，突变株TM的应用前景仍被看好，因为它具有其它角黄素合成生物无法比拟的优势特征：(1)细胞在高浓度氯化钠条件下生长良好，使非无菌培养突变株TM生产角黄素成为可能；(2)细胞在淡水中可自动发生自

溶，不需要细胞分解装置。正由于以上特征，利用突变株TM生产角黄素的工艺将更简单，生产成本亦将大大降低^[18]。

4.2.3 细菌 *Dietzia natronolimnaea* HS-1: 角黄素是细菌*D. natronolimnaea* HS-1的主要色素^[20]。在适宜的条件下，该菌株的最大生物量和角黄素积累量可分别达到7.25 g/L和0.73 mg/g 干细胞(相当于5.31 mg/L)^[21]。由于可同时获得较大的生物量和较高的角黄素产量，因而应用前景看好。然而，该菌株作为角黄素生物来源的相关研究刚刚起步，还有大量的基础性研究工作有待完成。

4.2.4 高产角黄素细菌突变体 *Gordonia jacobaea* MV-26: 细菌*G. jacobaea*的色素组成以角黄素和β-胡萝卜素为主，但其野生株*G. jacobaea* MV-1的角黄素含量较低，仅有0.2 mg/g^[22]，远达不到产业化规模开发的要求。经过多轮诱变筛选，最终获得了高产角黄素突变株MV-26，其角黄素的积累量比野生株提高了6倍^[23]，但水平仍不足用于实际生产中。

4.2.5 其它产角黄素的微生物: 在细菌地壳根瘤菌*Bradyrhizobium* sp.、*Chlorella emersonii*和*Micrococcus roseus*^[2]中均发现有角黄素，但产量都不高，还无法满足大规模开发应用的要求。

5 国内角黄素生产技术状况

目前，国内的角黄素产品主要从国外购买。国内角黄素的研究开发刚刚起步，还未见有微生物发酵生产角黄素。尽管利用化学合成法生产角黄素在欧美发达国家有成熟的技术，但迄今为止，国内只有江西中德联合研究院和浙江大学两家报道过用化学合成法制备角黄素。前者用一步法合成角黄素，其主要是利用β-胡萝卜素作原料，通过氧化剂氯酸钠来合成的^[24]；后者主要是用1,3-二双键十五碳膦酸酯直接缩合法合成β-胡萝卜素，再对β-胡萝卜素进行选择催化氧化合成角黄素^[25]。两家的相关工作目前都还处于实验阶段，尚未开始工业化生产。

6 结束语

随着角黄素在人类生活、保健、医疗上的重要性逐渐为人们所认识，开发利用角黄素资源已成为一个引人注目的发展趋势。联合国粮农组织(FAO)和世界卫生组织(WHO)的食品添加剂联合专家委员会、欧盟的食品科学委员会和动物营养科学委员会

(SCAN)都相继对角黄素的生物安全性进行了评估,并严格规定了角黄素的人体每日允许摄入量(ADI),以保护消费者的安全。天然角黄素因为容易吸收并且不涉及化学工艺而更受消费者欢迎,将成为今后的角黄素市场中的主导产品,替代现有市场上的化学合成品。但迄今为止,天然角黄素尚未实现大规模的生产。适宜产业化生产的角黄素合成生物的缺乏,已成为发展天然角黄素的瓶颈,目前急需具有角黄素高产潜力的新的生物资源的开发。因此,加紧研究与开发新的角黄素生物来源,或在现有的研究基础上进一步改良发酵微生物菌株性能,获得高产稳定的微生物菌种,是将天然角黄素推向产业化必须要做的工作。

参 考 文 献

- [1] Salvador AM, Alonso-Damian A, Choubert G, *et al.* Effect of soybean phospholipids on Canthaxanthin lipoproteins transport, digestibility, and deposition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) muscle. *J Agr Food Chem*, 2007, **55**(22): 9202–9207.
- [2] Bhosale P, Bernstein PS. Microbial xanthophylls. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, **68**: 445–455.
- [3] Tanaka T, Makita H, Ohnishi M, *et al.* Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally-occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. *Cancer Res*, 1995, **55**(18): 4059–4064.
- [4] Grubbs CJ, Eto I, Juliana MM, *et al.* Effect of canthaxanthin on chemically-induced mammary carcinogenesis. *Oncology*, 1991, **48**(3): 239–245.
- [5] Palozza P, Calviello G, Serini S, *et al.* Antitumor effect of an oral administration of canthaxanthin on BALB/c mice bearing thymoma cells. *Nutr Cancer*, 1997, **28**(2): 199–205.
- [6] Silke DS, Wilhelm S. Astaxanthin and canthaxanthin in UV-protection: Effects on gap junctional communication. *Ann Nutr Metab*, 2007, **51**: 224–224.
- [7] 汪洪涛, 徐学明, 金征宇. 角黄素性质与开发应用. *粮食与饲料工程*, 2003, **6**: 31–32.
- [8] Shih CK, Chang JH, Yang SH, *et al.* Beta-carotene and canthaxanthin alter the pro-oxidation and antioxidation balance in rats fed a high-cholesterol and high-fat diet. *Brit J Nutr*, 2008, **99**(1): 59–66.
- [9] Bendich A, Shapiro SS. Effect of β -carotene and canthaxanthin on the immune responses of the rat. *J Nutr*, 1986, **116**: 2254–2262.
- [10] Sklan D, Yosefov T, Friedman A. The effects of vitamin A, beta-carotene and canthaxanthin on vitamin A metabolism and immune responses in the chick. *Int J Vitam Nutr Res*, 1989, **59**(3): 245–250.
- [11] Katsumura N, Okuno M, Onogi N, *et al.* Suppression of mouse skin papilloma by canthaxanthin and beta-carotene in vivo. Possibility of the regression of tumorigenesis by carotenoids without conversion to retinoic acid. *Nutr Cancer*, 1996, **26**(2): 203–208.
- [12] Gensler HL, Holladay K. Enhanced resistance to an antigenic tumor in immunosuppressed mice by dietary retinyl palmitate plus canthaxanthin. *Cancer Lett*, 1990, **49**: 231–236.
- [13] 裴凌鹏, 董福慧, 惠伯棣, 等. 角黄素改善H₂O₂对成骨细胞损伤的影响. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2007, **27**(2): 113–117.
- [14] Choi S, Koo S. Efficient syntheses of the keto-carotenoids canthaxanthin, astaxanthin, and astacene. *J Org Chem*, 2005, **70**(8): 3328–3331.
- [15] Frank D, Jurgen B, Christoph W, *et al.* Process for the production of canthaxanthin. US: 0010164A1. 2004.
- [16] 陈 峰, 姜 悦. 微藻生物技术. 北京: 中国轻工业出版社, 1999, pp.191–195.
- [17] Nells HJ, De Leenheer AP. Microbial source of carotenoid pigments used in food and feeds. *J Appl Bacteriology*, 1991, **70**: 181–191.
- [18] Asker D, Ohta Y. Production of canthaxanthin by extremely halophilic bacteria. *J Biosci Bioeng*, 1999, **88**(6): 617–621.
- [19] Asker D, Ohta Y. Production of canthaxanthin by *Haloferix alexandrinus* under non-aseptic conditions and a simple, rapid method for its extraction. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, **58**: 743–750.
- [20] Razavi SH. Détermination de conditions de mise en oeuvre d'une souche nouvellement isolée de *Sporobolomyces ruberrimus* pour la production de torularhodine. PhD Thesis. Institut national polytechnique de lorraine-Laboratoire des sciences de génie chimique, Nancy, France. 2004.
- [21] Khodaiyan, Faramarz, Razavi SH, *et al.* Effect of culture conditions on canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, **17**(2): 195–201.
- [22] De Miguel T, Sieiro C, Poza M, *et al.* Isolation and taxonomic study of a new canthaxanthin-containing bacterium, *Gordonia jacobaea* MV-1 sp. nov.. *Int Microbiol*, 2000, **3**: 107–111.
- [23] Veiga-Crespo P, Blasco L, dos Santos FR, *et al.* Influence of culture conditions of *Gordonia jacobaea* MV-26 on canthaxanthin production. *Int Microbiol*, 2005, **8**: 55–58.
- [24] 陆 豫, 匡滨海, 张 彬. 一步法合成斑螫黄. *精细化工*, 2000, **17**(2): 74–75.
- [25] 杨泽慧, 陈新志, 钱 超. 角黄素合成新工艺. *化工学报*, 2006, **57**(5): 1193–1197.