

# 毛蚶的生物活性成分研究进展<sup>Δ</sup>

徐 艳<sup>1\*</sup>, 张秀国<sup>2</sup>, 童万平<sup>1</sup>, 孙雪萍<sup>1#</sup>(1. 广西海洋研究所/海洋生物技术重点实验室, 广西北海 536000; 2. 北海学院北京航空航天大学, 广西北海 536000)

中图分类号 R931.77 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)19-1805-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.19.27

**摘要** 目的:为进一步研究和开发毛蚶提供参考。方法:查阅国内外相关文献,从研究方法和研究内容等方面对毛蚶生物活性成分的研究现状进行分析和总结。结果:毛蚶生物活性成分方面的研究主要是针对其粗提物及大分子物质进行活性评价,大分子物质以多糖和多肽为主,药理活性主要集中在抗肿瘤和免疫调节活性等方面。结论:为了更好的研究毛蚶的生物活性成分,应加强对毛蚶水提物特别是有效单体成分的进一步研究;同时,还应进行毛蚶中小分子次生代谢产物的研究。

**关键词** 毛蚶;多糖;蛋白与多肽;生物活性

毛蚶(*Scapharc subcrenata*)是我国重要的海产经济埋栖型贝类,属软体动物门,瓣鳃纲,蚌目,蚌科,毛蚶属,主要分布于中国、朝鲜和日本沿海,其药用历史悠久,以壳入药,名瓦楞子,具有消痰化痰、软坚散结、制酸止痛的功效<sup>[1-2]</sup>,《神农本草经》及历代主要本草中均有记载,蚶肉为海产食品,据《随息居饮食谱》记载,能“补血、润肠、生津、健胃”,民间用于抗肿瘤、抗贫血和抗炎等,有很好的药用和保健价值。目前,国内对毛蚶的研究多集中于生物学和养殖方面,以粗提取物和营养成分分析为主,也有一些毛蚶提取物酶活性和免疫活性的报道<sup>[3-5]</sup>。毛蚶生物活性成分方面的研究主要是针对其粗提物及大分子物质进行活性评价,而对其小分子活性物质的研究较少。本文对毛蚶的化学成分和药理活性进行综述,为今后进一步开发和利用提供参考。

## 1 化学成分

毛蚶提取物中含有丰富的蛋白质、糖类及氨基酸、铁等物质<sup>[6]</sup>,具有良好的生理功能。目前,毛蚶生物活性成分的研究以毛蚶多糖和多肽这两类大分子物质为主,对其小分子次生代谢产物的研究较少,毛蚶化学成分的研究主要包括以下几个方面。

### 1.1 多糖

王莉等<sup>[6]</sup>通过单因素试验和正交试验,对毛蚶肉食部分多糖的提取工艺进行了研究,考察了提取时间、提取次数、温度、料液比对毛蚶多糖得率的影响,并采用噻唑蓝(MTT)法测定了毛蚶多糖提取液对小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响。最终确定毛蚶多糖的最佳提取条件为:料液比为1:20(g/ml),80℃下提取4h,共提取3次,此提取条件下得到的毛蚶多糖不仅得率高,且活性强。胡雪琼等<sup>[7]</sup>以毛蚶全脏器为原料,提取、纯化得到了毛蚶糖胺聚糖(SSG)的3个主要级分,成分分析表明,其组成均以氨基己糖为主,含有己糖醛酸、硫酸基,红外光

谱显示此3个级分均含有糖胺聚糖的特征基团。动物实验表明,SSG对正常小鼠的生长无明显的不良作用,SSG低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)组均可明显提高正常小鼠和免疫力低下小鼠胸腺、脾指数。何赟绵等<sup>[8]</sup>采用除蛋白、DEAE-52和Sephadex-G50柱层析等方法,从毛蚶肉食部分得到一种多糖精品(Polysaccharide from *A. subcrenata*, ASLP),通过糖醇乙酸酯法测定了其单糖组成,结果表明其单糖组成只有葡萄糖。ASLP的化学结构通过红外、紫外、核磁共振等方法测定,结果显示其主链为 $\alpha$ -(1→4)-*D*-glucan,且每4个重复单元在C-6处有一个 $\alpha$ -(1→6)-*D*-glucan支链。

### 1.2 蛋白及多肽

为了从毛蚶中获得抗氧化活性物质,宋丽艳等<sup>[9]</sup>应用3个酶(Neutrase、Alcalase和Papain)水解了毛蚶全脏器的组织匀浆,并采用正交试验法研究了其最优的酶解和水解条件,同时以pH-stat法测定水解程度。结果显示,以清除 $\alpha$ 、 $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl(DPPH)自由基和过氧化氢的能力为例,alcalase hydrolysate(AH)酶解产物的还原力比Neutrase hydrolysate(NH)和Papain hydrolysate(PH)酶解产物的要高,其在DPPH自由基和过氧化氢清除作用的EC<sub>50</sub>值分别为6.23、19.09 mg/ml,具有最好的抗氧化活性,并且AH酶解产物的相对分子质量比NH和PH产物的相对分子质量要小、其蛋白的氨基酸含量更高,具有大量可能有活性的肽。因此,Alcalase酶被认为是产生活性组分的最优酶。任胜芳等<sup>[9]</sup>应用反相高效液相色谱(RP-HPLC)法分析毛蚶内脏脏中的抗癌活性肽,确定了毛蚶活性肽的最优分离条件:温度为30℃,波长为280 nm,流速为1.0 ml/min,流动相A为80%乙腈(含0.1% TFA),流动相B为0.1% TFA水溶液(梯度洗脱),并应用上述条件,成功得到了10批样品的指纹图谱,确定了14个共有峰。

王勇等<sup>[10]</sup>利用Superdex-75、Sephadex LH-20凝胶柱层析等方法从毛蚶中分离纯化出具有抗氧化活性的组分P3,并采用铁氰化钾、DPPH等方法测定了P3的还原力及清除自由基能力,同时还采用茚三酮法、葱酮法、考马斯亮蓝结合法、薄层层析等方法对该组分进行了定性分析。结果,从毛蚶中分离得到了具有抗氧化活性的组分P3,经定性分析推测该活性组

<sup>Δ</sup> 基金项目:广西科学研究与技术开发计划项目(No.桂科攻11107011-8);广西科学院基本科研业务费资助项目(No.13YJ22HYS15)

\* 助理研究员,硕士研究生。研究方向:海洋天然产物。电话:0779-2052295。E-mail:286864218@qq.com

# 通信作者:助理研究员,博士研究生。研究方向:海洋天然产物。电话:0779-2075089。E-mail:690917809@qq.com

分为糖肽。宋丽艳等<sup>[11]</sup>应用均一化、硫酸铵盐析、离子交换层析法和凝胶过滤层析等技术从毛蚶内脏团中纯化得到两个蛋白 G-6 和 G-4-2, 经 RP-HPLC 检测, 纯度超过 96%, 相对分子质量分别为 8.2、6.0 kDa, 等电点分别为 6.6 和 6.1, G-6 和 G-4-2 的氨基酸组成也得到确定, 经苯酚-硫酸法分析 G-6 为糖蛋白, 而 G-4-2 为蛋白。

## 2 药理活性

毛蚶提取物药理活性的研究, 主要集中在其多糖和多肽的抗肿瘤活性及其机制方面, 毛蚶的药理活性主要表现在以下几个方面。

### 2.1 降血糖、血脂作用

窦昌贵等<sup>[12]</sup>研究了毛蚶水解液的生物学活性, 实验表明毛蚶水解液灌胃 10、20 g/kg 后, 对正常小鼠的血糖水平无明显影响, 但对四氧嘧啶所致实验性糖尿病小鼠有显著的降血糖作用, 同时对食物性高脂血症鹌鹑的血清总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)亦能显著降低, 显示了较好的降血糖、血脂作用, 可用于糖尿病及糖尿病合并高脂血症的治疗。范秀萍等<sup>[13]</sup>研究了 SSG 对高脂血症小鼠的降血脂作用以及对动物细胞内胆固醇生物合成的影响。从实验结果看, SSG 中(饲料质量的 2%)、高剂量(饲料重量的 3%)能明显降低高脂血症小鼠血清中 TC、TG、低密度脂蛋白(LDL-C)和动脉粥样硬化指数(AI)值( $P < 0.05$ ), 且其降血脂作用表现出明显的量效关系, 具有明显的改善脂质代谢、降低血脂和预防动脉粥样硬化的作用。病理学观察结果表明, 毛蚶 SSG 可降低肝细胞的脂肪病变, 保持肝细胞形态的正常, 对脂肪肝具有一定的疗效。两性霉素 B-细胞模型法实验显示, 毛蚶糖胺聚糖极分 SSG2-3-1、SSG2-3-2 具有保护中国仓鼠卵巢细胞(CHO 细胞)免受两性霉素 B 损伤的作用( $P < 0.01$ ), 且具有一定的剂量效应关系, 表明毛蚶糖胺聚糖能明显抑制内源性胆固醇合成, 可能是其调节血脂的作用机制之一。

### 2.2 护肝作用

窦昌贵等<sup>[14]</sup>对毛蚶水解液的护肝作用进行了研究。小鼠灌胃毛蚶的水解液(Hydrolysate of Arca subcrenata, HA) 10、20 g/kg 后, 对四氯化碳、硫代乙酰胺(TAA)和强的松龙引起的血清谷丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性升高均有明显降低作用( $P < 0.01$ ), 且能缩短戊巴比妥钠诱导的正常小鼠和四氯化碳肝损伤小鼠的睡眠时间( $P < 0.05$ )。HA 对上述 3 种类型小鼠 ALT 活性增强均有抑制作用, 表明其作用机制比较复杂, 可能一方面间接抑制肝细胞内 ALT 的合成; 一方面通过减轻肝损伤的病理过程, 保护细胞膜结构和功能的完整性, 减少 ALT 的释放, 其确切的机制有待进一步的研究。

### 2.3 抗氧化作用

吴思聪等<sup>[15]</sup>研究了毛蚶提取物对氧自由基的清除和抗氧化作用, 采用三种不同方法处理毛蚶提取物, 再分别对氧自由基模型进行作用, 测定其清除氧自由基和抗氧化作用的效果。结果表明, 采用饱和硫酸铵沉淀法去除大量杂蛋白后, 所获得的毛蚶提取物最大限度地保留了超氧化物歧化酶(SOD 酶), 对超氧阴离子具有明显清除作用, 具有良好的潜在应用

价值。

### 2.4 抗菌活性

郭道森等<sup>[16]</sup>采用硫酸铵分级盐析、Sephadex G-25 柱脱盐和 Bio-gel P-10 柱层析等方法, 从毛蚶血浆中分离纯化出了抗菌作用较强的蛋白组分。结果表明, 该抗菌蛋白组分对供试革兰阳性菌即金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)和四联微球菌(*Micrococcus tetragenus*)具有较强的抑菌活性, 而对供试革兰阴性菌即大肠杆菌(*Escherichia coli*)、普通变形菌(*Proteus vulgaris*)和副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)无抑菌活性, 对供试真菌尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)、细链格孢(*Alternaria tenuis*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)和灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)的菌丝生长有一定的抑制作用, 对柑桔青霉(*Penicillium citrinum*)和松球壳孢菌(*Sphaeropsis sapinea*)无抑菌作用。性质实验表明, 该抗菌蛋白组分具有很好的热稳定性, 120 °C 处理 30 min 其抑菌活性仍保持 85% 以上, 对胰蛋白酶和蛋白酶 K 不敏感。

### 2.5 免疫调节活性

胡雪琼等<sup>[8]</sup>从毛蚶全脏器中分离提取出 SSG, 动物实验表明, SSG 对正常小鼠的生长无明显不良作用, SSG 低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)均可明显提高正常小鼠和免疫低下小鼠胸腺、脾指数。此外, 何贤缙等<sup>[14]</sup>从毛蚶肉食部分中得到的一种多糖精品 ASLP, 体外脾淋巴细胞增殖实验表明, ASLP 能够显著地促进脾淋巴细胞的增殖, 具有显著的体外免疫活性。王莉等<sup>[17]</sup>研究了毛蚶多糖对正常小鼠免疫功能的影响, 通过体外方法研究毛蚶多糖对脾淋巴细胞, T、B 淋巴细胞增殖能力的影响以及淋巴细胞产生白细胞介素(IL)-2 的影响, 体内法研究小鼠体质量、脏器指数和碳廓清能力以及 ConA 诱导脾淋巴细胞转化的能力, 来观察毛蚶多糖对小鼠免疫功能的影响。结果, 体外实验中, 毛蚶多糖可增强淋巴细胞的增殖能力以及 IL-2 的活性, 与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 体内实验中, 中、高剂量组的脏器指数和吞噬指数、校正吞噬指数以及淋巴细胞转化率与对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 表明毛蚶多糖对小鼠的免疫功能具有一定的调节作用, 是一种良好的免疫调节剂。

黄演君等<sup>[18]</sup>考察了毛蚶软体部位多肽提取物(PEAS)的体外免疫活性, 通过 MTT 法测定了 PEAS 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响及对小鼠自然杀伤细胞(NK 细胞)杀伤活性的影响, 中性红吞噬法测定 PEAS 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响, 流式细胞术测定 PEAS 所致小鼠脾淋巴细胞周期的变化, 双抗体夹心 ELISA 法测定 PEAS 对主要细胞因子干扰素(IFN- $\gamma$ )和 B 细胞刺激因子分泌水平的影响。结果表明, PEAS 能够明显促进小鼠脾淋巴细胞增殖( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 能够增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性红活性和小鼠 NK 细胞杀伤活性( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 能够促进脾淋巴细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期向 DNA 合成期(S 期)转化, 能够协同 Con A 作用, 增加 IFN- $\gamma$  的分泌( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 并且能够抑制 IL-4 的分泌( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 所以 PEAS 体外可促进小鼠脾淋巴细胞、腹腔巨噬细胞与 NK 细胞的免疫功能, 其机制可能与促进脾淋巴细胞

DNA合成,增加IFN- $\gamma$ 的分泌量有关。

## 2.6 抗肿瘤作用

多种海洋生物均具有抗肿瘤活性,其中海洋贝类成为研究开发的热点,毛蚶也有不少文献报道其有显著的抗癌活性。陈守国等<sup>[19]</sup>在申请的专利中报道,采用生物技术提取、硫酸铵分级沉淀、凝胶过滤分析、Sephadex G-25脱盐等方法制备毛蚶软体部位抗癌活性肽后,经筛选,分子质量为3 kDa以下的毛蚶肽类成分制备成的注射剂,具有光谱的抗癌疗效,临床可用于治疗肺癌、肾癌、胃癌、肝癌、膀胱癌、前列腺癌、乳腺癌、白血病等癌症,且不良反应小。燕春义等<sup>[20]</sup>观察了毛蚶软体部位提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响,通过复制小鼠S180肿瘤模型,观察肿瘤生长情况,通过荷瘤小鼠免疫器官指数测定、小鼠巨噬细胞功能的测定,初步评价毛蚶提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响。结果显示,毛蚶提取物能抑制小鼠S180肉瘤生长,且可能与其刺激机体免疫器官、增加巨噬细胞吞噬功能有关。Song L等<sup>[11]</sup>从毛蚶内脏团中得到的两个蛋白G-6和G-4-2,经MTT法体外抗肿瘤活性检测,G-4-2对Hela、HL-60和口腔表皮样癌细胞(KB细胞)系的IC<sub>50</sub>值分别为22.9、46.1和57.7  $\mu\text{g/ml}$ ,G-6对HL-60细胞系的IC<sub>50</sub>值为123.2  $\mu\text{g/ml}$ 。

## 3 结语

目前,对毛蚶生物活性成分的研究以毛蚶多糖和多肽这两类大分子物质为主,药理活性主要有抗肿瘤活性、抗氧化活性以及免疫抑制活性等,经过分离纯化和结构鉴定等研究,已经得到了一些活性多糖和多肽的单体化合物,其作用机制有待进一步研究。未见小分子次生代谢产物的相关报道。

海洋生物多糖类物质具有抗肿瘤、抗病毒、抗心血管疾病、抗氧化、免疫调节等药用功能<sup>[21]</sup>,有关贝类多糖抗肿瘤作用近年来研究较多。多糖的抗肿瘤作用与单糖间糖苷键的结合方式有关,目前认为以(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-葡聚糖占优势的多糖具有明显的抗肿瘤活性,贝类多糖抗肿瘤作用的主要机制与其免疫调节和抗氧化作用有关,毛蚶活性多糖的研究也是以抗氧化和免疫调节作用为主。

贝类活性肽是研究热点之一,国外已对贻贝、扇贝等双壳贝类体中抗菌蛋白特别是防卫素等抗菌物质开展了大量研究,发现了数万种的生物活性多肽,其中有近百种多肽作为药物进行生产<sup>[16,22-23]</sup>。酶解多肽的抗氧化活性与其相对分子质量有关,相对分子质量为5 kDa的多肽具有明显抗氧化活性<sup>[24]</sup>,其抗氧化活性与 $\alpha$ -生育酚相当。毛蚶活性蛋白及多肽研究表明,毛蚶蛋白提取液和水解液,具有各种不同的活性多肽,药理活性主要有抗肿瘤活性、抗菌活性和免疫活性。

尽管大量的活性多肽和多糖已经从海洋生物中分离得到,但其中仅有少部分可作为药品进行开发进入市场,相当多的新化合物作为先导化合物,为新药的研究提供线索,还有一些海洋活性多肽在生物体内的含量很少,所以在其生理活性和结构确定后,采用合成的方法实现其产业化生产。

## 参考文献

[1] 姜凤吾,张玉顺.中国海洋药物辞典[M].北京:海洋出版社,1994:50.  
[2] 中国人民解放军海军后勤卫生部,上海医药工业研究院.中国药用海洋生物[M].上海:上海人民出版社,1977:67.  
[3] 肖湘,高文丽,俞丽君.毛蚶超氧化物歧化酶的纯化、部分性质与修饰[J].中国海洋药物,2001,20(3):43.

[4] 何赟绵,陈宇星,刘纯慧,等.毛蚶多糖的分离纯化和免疫活性测定[J].中国海洋药物,2007,26(2):23.  
[5] 李谦,李泰明,王香琴,等.毛蚶提取物生化性质初步分析[J].药物生物技术,1998,5(4):245.  
[6] 王莉,姚全胜.毛蚶多糖提取工艺的研究[J].食品工业科技,2009,7(30):215.  
[7] 胡雪琼,吴红棉,林志明,等.毛蚶糖胺聚糖的理化性质及其对小鼠免疫脏器影响的初步研究[J].现代食品科技,2008,24(8):763.  
[8] Song LY, Li TF, Yu RM, et al. Antioxidant activities of hydrolysates of Arca Subcrenata prepared with three proteases[J]. Mar Drugs, 2008, 6(4):607.  
[9] 任胜芳,宋丽艳,严春艳,等.毛蚶中抗癌活性肽高效液相色谱指纹图谱分析研究[J].中药材,2008,31(8):1134.  
[10] 王勇,杨静,孙岫,等.毛蚶提取物的抗氧化活性进行了分析[J].中国海洋药物,2008,27(3):11.  
[11] Song L, Reu S, Yu R, et al. Purification, characterization and in vitro anti-tumor activity of proteins from Arca subcrenata Lischke[J]. Mar Drugs, 2008, 6(3):418.  
[12] 窦昌贵,严永清.毛蚶水解液降血糖降血脂的实验研究[J].中国海洋药物,1996,15(1):13.  
[13] 范秀萍,林志明,吴红棉,等.毛蚶糖胺聚糖降血脂作用及其机制的初步研究[J].中国食品学报,2011,11(2):70.  
[14] 窦昌贵,严永清,张征.毛蚶水解液对小鼠实验性肝损伤的保护作用[J].中国海洋药物,1996,15(3):17.  
[15] 吴思聪,张哲绚.毛蚶清除氧自由基作用的研究[J].现代食品科技,2010,26(3):238.  
[16] 郭道森,魏玉西,李丽.毛蚶血浆中抗菌蛋白的纯化及抗菌活性研究[J].海洋科学,2005,29(3):25.  
[17] 王莉,何赟绵,姚全胜.毛蚶多糖免疫调节作用的实验研究[J].华西药理学杂志,2009,24(4):340.  
[18] 黄演君,宋丽艳,于荣敏.毛蚶多肽提取物的体外免疫活性[J].中国生化药物杂志,2011,32(4):273.  
[19] 陈守国,王春波,姚如永,等.一种毛蚶抗癌肽类提取物及其制备方法:中国专利,200510043797[P].2006-11-08.  
[20] 燕春义,申洪波,王哲.毛蚶提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J].辽宁中医杂志,2009,36(4):656.  
[21] 王悦晴,金天大,陈仲康.近年我国海洋药物研究现状和发展概况[J].药物流行病学杂志,2004,13(3):134.  
[22] Mitta G, Hubert F, Noel L, et al. Myticin: a novel cysteine-rich antimicrobial peptide isolated from haemocytes and plasma of the mussel Mytilus galloprovincialis[J]. Eur J Biochem, 1999, 265(1):71.  
[23] Mitta G, Vandenbulcke F, Hubert F, et al. Involvement of mytilins in mussel antimicrobial defense[J]. J Biol Chem, 2000, 275(17):12954.  
[24] Jeon YJ, Byun HG, Kim SK. Improvement of functional properties of cod frame protein hydrolysates using ultrafiltration membranes[J]. Process Biochem, 1999, 35(5):471.

(收稿日期:2013-08-09 修回日期:2014-03-25)