海洋生物活性物质的研究与开发

李光友 (国家海洋局第一海洋研究所)
刘发义 (国家海洋局海洋生物活性物质重点实验室)

一般认为, 海洋生物活性物质主要包括海洋药用物质、生物信息物质、海洋生物毒素和生物功能材料等各种天然产物。关于生物活性物质的定义, 日本的鸿巢章二和桥本周久所编著的《水产利用化学》一书中有这样的叙述: "所谓生理(或生物)活性物质是指对生命现象具有影响的微量或少量物质", 他们把生物活性物质和生理活性物质看成一样的概念。按照上述的定义, 一般的蛋白质、氨基酸、脂肪、糖类和常量矿物元素则不算为生物活性物质, 因为它们不是微量或少量的, 尽管它们对生命现象具有影响; 但对几丁聚糖, 人们又通常将其看成是生物活性物质, 虽然它们在虾、蟹壳中的含量相当大; 鱼油中的 EPA 和 DHA 也通常被认为是生物活性物质, 尽管其在海洋鱼类中的含量并不是微量或少量。看来鸿巢和桥本的定义似乎还不太全面, 但除了上述的定义叙述外, 本人尚未看到其他更明确的定义。

一、特点和研究开发意义

由于海洋特殊的环境, 使得海洋生物活性物质具有许多独特的性质:

一是种类繁多、结构特异。在动物界 28 个主要的动物门中, 有 26 个门生活在水中, 其中 8 个门是陆地上所没有的。此外, 海洋中还存在着大量的海洋藻类, 以及海绵动物、腔肠动物等较低等的海洋生物, 其种类约为 150000～200000 种。由于海洋中生活着如此大量的生物, 加之海水环境的特殊性, 因此在海洋生物中存在着大量的、种类繁多的生物活性物质, 仅 1977～1987 年 10 年间就发现有 2500 种。这些活性物质包括萜类、肽类、聚醚类、氨基酸类、脂类和脂肪酸类、生物碱、皂甙、有机酸、蛋白质等等, 而每一类活性物质中又包含着许多结构不同的化合物, 以萜类化合物为例, 仅从凹顶藻属中就分离得到 26 种新型碳架结构的萜类, 从海绵中得到了 150 种二倍半萜, 占目前已知的二倍半萜的三分之二以上。又如甾类化合物, 仅 1972～1976 年四年间, 从海洋生物中获得的这类化合物的种类就是过去所有甾醇总和的两倍, 甚至在一种海绵体内就发现 50 种左右的甾醇。很多海洋生物活性物质的结构很独特, 如我国中山大学苏镜娱等人从软珊瑚中分离出的两个具有双十四元环碳架的四萜化合物, 在陆生生物中就没有见到过; 海洋生物中有机卤化物和胍类衍生物很多, 陆生生物也很少。

二是活性强。如河豚毒素的毒性比合成战争毒气的毒性大上千倍, 石房蛤毒素(saitoxin, STX)对神经的麻痹毒性比可卡因大 10 000 倍, 西加毒素(ciguatoxin)、沙海葵毒素(palytoxin, PTX)和刺尾鱼毒素(maitotoxin, MTX)的毒性更强。

三是含量一般很微。如西加毒素在鱼体内的含量只有 $1\sim10\times10^{-6}$ ppb, 1000 千克鱼肉中才能获得 1 毫克。这一特征表明, 对大部分活性物质要直接利用海洋生物作原料来进行分离提取, 是很难满足人类需求的。不过也有一些活性物质在海洋生物体内含量较高, 如海洋鱼类、微藻和其他海洋生物中的 $\omega3$ 高度不饱和脂肪酸、牡蛎等海洋生物中的牛黄酸、海藻中的多糖和碘等都是含量较高的, 且生物资源丰富, 可以直接从海洋生物中获取而加以利用。

开发的难度大。由于海洋生物生活在大海中,有的还生活在大洋深处,要采集它们会碰到很多困难;另外,生活活性物质一般比较容易变质破坏,加之很多活性物质在生物体内含量很微,而海洋生物本身的成分相对又比较复杂,给其分离、运输、保存等都带来很多困难,因此要获得大量比较纯的、保持其原来活性的海洋生物活性物质相当困难。

由于海洋生物中存在着大量的、具有各种生理活性的天然产物,而且很多是陆生生物所没有的,因此,对海洋生物活性物质的研究和开发,显然具有重大意义。

(1) 可以从海洋生物中获得陆地上没有的、作用显著的新药。人们对海洋生物活性物质的兴趣,自始至终是集中在利用其来开发新药。当前癌症、心脑血管病、爱滋病、各种免疫性疾病及退行性疾病对人类的生存构成很大威胁,现存的陆生天然药物及化学合成药物的抗癌、抗病毒、抗真菌及免疫调节作用的效果不理想,且副作用很多,甚至导致死亡,必须另辟新药途径,这是刻不容缓的,而海洋是一个蕴藏许多药理活性物质的宝库。

(2) 利用海洋生物活性物质开发功能独特的保健品、化妆品和食品。同时,这些也是从陆生生物中得不到的,如海洋生物中富含的 EPA 和 DHA 在陆生生物中就很少有。

正由于上述原因,目前海洋生物活性物质的研究与开发,成了一个非常热门的领域,在我国,从中央一些部委到沿海各省市,都把海洋药物或海洋生物活性物质的研究作为"九五"规划的重要研究内容,很多科研机构和大专院校也纷纷着手开展这方面的研究和开发工作,不少大的企业也把眼光投向了这一领域。世界上的一些发达国家更是投入大量的人力物力进行这方面的研究开发。随着工作的深入,海洋将会向人类提供越来越多的药品、保健品和功能食品。

二、研究开发的新技术

我国人民很早就将海洋生物作为药用在战国时期的《山海经》中记载的海洋药物就有 27 种,后来在东汉的《神农本草经》、唐代的《本草拾遗》,明代李时珍的《本草纲目》和清代的《本草纲目拾遗》等 20 多种古医籍中,记载了一百多种海洋药物资源及其功用。

现代的海洋生物活性物质的研究始于 60 年代。1969 年 A. J. Weinheimer 等人从佛罗里达海域的等枝丛柳珊瑚(*plexaura homomalla*)中分离出前列腺素 15R-PGA2,成了"向海洋要药"的里程碑,后来经世界各国海洋生物、化学、药理和毒理学家的努力,召开了五次海洋天然生物活性物质的国际会议,出版了 10 余册专著,美、日等国还建立了一批高水平的研究机构。但由于采样困难,分离和生物试验繁杂,投资大,周期长,风险大等原因,再加上各种规章制度和检测严格等限制,难度很大,到 70 年代末期出现了低谷,直到 80 年代后期,在科技进步的推动下,以及心脑血管病、癌症、糖尿病、爱滋病等严重威胁着人类的健康和生存,为寻找新药,又掀起了研究海洋药物的热潮,并取得了不少成效,到目前已经发现具有重要生理及药理活性的化合物就达上千种。在这期间,我国的海洋药物研究与开发也取得了很大的进展,据初步统计,我国近海已发现具有药用价值的海洋生物达 700 多种。

关于海洋生物活性物质研究的概况已有很多报告,这里主要介绍国内外在产品开发方面的情况。

总的来看,虽然国内外对海洋生物活性物质的研究投入了大量的人力物力,但是到目前为止,在海洋药物开发方面真正达到临床应用和产业化生产的却很少,能获得一类新药证书的更是寥寥无几。但在海洋保健品和功能食品的研究和开发方面,近年来国内外却取得了不少成绩。无论是海洋药物还是海洋保健品开发,最多的都是集中在抗癌和防治心脑血管病两个方面,下面分别列举部分达到实用阶段或即将达到实用阶段的例子。

表 1　部分海洋抗癌药物和保健品

药物名称	原　料	主要成分	主　要　功　能
海拿登(marinactan)	海洋细菌		有极强的抗癌作用,已进入临床试验
Brvostatin 1	海洋苔藓虫		抑制白血病细胞,正在进行Ⅰ期临床
海鞘素 B(Didemin B)	海鞘	环肽	明显的抗癌、抗病毒和免疫调节作用,正进行Ⅱ期临床,可成为新的抗癌药
Dolastatin 10	海兔	小肽	抗癌,极具临床应用前景
络氨酸代谢物	海绵		对乳腺癌、肺癌有极强的抑制作用,已进入Ⅰ期临床
鲨鱼软骨胶囊	鲨鱼软骨	多肽	抗癌,已有产品进入市场
鲨鱼油乳剂	姥鲨肝		抗癌,已通过Ⅰ、Ⅱ期临床
角鲨烯胶丸	鲨鱼肝	角鲨烯	缓解心脑缺氧症,提高机体免疫力
海力特	海藻		提高免疫力,抑制癌症,是癌症治疗的辅助药物
海嘧啶	海藻等	海藻多糖	抗肿瘤化疗药
复方海藻多糖	海带、羊栖菜等	多糖	抗癌中药制剂

表 2　部分防治心脑血管病的海洋药物和保健品

名　称	原　料	主要成分	主　要　功　能
藻酸双酯钠(PSS)	海藻		治疗心血管病
甘露醇烟酸酯	海藻		治疗心血管病
多烯康胶囊	海洋鱼类	EPA、DHA	降血脂、降血压、降血粘、抗血凝等
鱼油制品*	海洋鱼类	EPA、DHA	功能同上
金牡蛎	牡蛎	多糖、牛磺酸等	降血脂、抗凝血、抗血栓,增强免疫
金贻贝胶囊	贻贝	牛磺酸、PUFA 等	保肝抗氧化
β-胡罗卜素	杜氏盐藻等		抗自由基、抗衰老
牛磺酸	贝类、头足类、鱼类等		抗氧化、抗突变、抗肿瘤

* 国内的鱼油制品的种类很多,大多是软胶囊的形式,有忘不了 DHA、小聪聪、鸿洋神深海鱼油、巨人脑黄金、海墨特脑黄金、多灵多鱼脑精、海盗 DHA 鱼精、精灵鱼 DHA、海洋宝等,国外的阿拉斯加、康威、维兹格等鱼油或鱼油制品也已进入我国市场。

表 3　其他功能的海洋产品

名　称	原　料	主要成分	主　要　功　能
Zidovudine(AZT)	海洋鲱鱼的精液	胸腺嘧啶脱氧核苷	目前世界上唯一批准正式使用于临床的抗艾滋病药物
甲壳质	虾、蟹壳		抑制肿瘤、消炎、抗辐射、防治心脑血管病;作为药物载体、包衣剂等
喜多安	虾、蟹壳	几丁聚糖	免疫调节
奇美好、海肤康、康肤灵人工皮肤	虾、蟹壳	几丁聚糖	不致敏、无刺激、无吸收中毒及占位排斥现象
海藻多硒营养液	海藻等	海藻硒、海藻碘、海藻多糖	增强免疫力、抗肿瘤
碘晶	海带、裙带菜等	有机碘	补碘
螺旋藻片(或胶囊)	螺旋藻	螺旋藻粉	减肥、免疫调节、增强体质
奇星施普瑞	螺旋藻	螺旋藻提取物	升高白细胞、降血脂、提高免疫力
刺参多糖钾	刺参	酸性多糖	增强免疫功能、抑制肿瘤

另外，值得一提的是，我国在海洋中成药的研究方面取得了许多突出的成绩，在全国的40多个中成药剂型中，海洋中成药大约占30%，如用牡蛎为主要原料的春血安、妇科止血灵、血牡片、海珍宝口服液、活力钙、金牡蛎、海力宝，含有乌贼原料的乌贝散、海墨素片，含海蛇成分的海蛇追风酒、海蛇酊，还有深海龙、海维特、海力特、海康通、海尔滋、海力胃宝、金海宝、安脑、生命王口服液、降脂安、佳钙宝等等。这些中成药对防治人民疾病、提高健康水平起到了很大的作用。

海洋生物活性物质研究和开发涉及到很多技术，包括含有生物活性物质的资源的增殖、再生技术，生物活性物质的提取、分离，纯化技术等。这里着重介绍目前受到广泛重视的几种主要的新技术。

1. 微藻生物反应器培养技术

微藻中含有多种生物活性物质，而微藻具有生长速度快、繁殖周期短、可塑性强、对营养素要求简单等特点，通过培养微藻而获得生物活性物质是目前国内外的一个研究和开发的热点。但传统的培养方法成本高，且难以保证稳定地大量供应，很多研究者在致力于微藻的大规模高效培养的研究，利用生物反应器培养微藻是当前的一个前沿领域。

目前微藻养殖中使用的各种水池也被称为生物反应器，因为它们是敞口的，称之为开放式生物反应器。而我们这里介绍的则是封闭式生物反应器。

(1) 封闭式光生物反应器　通过吸收光能进行光合作用而进行生长发育的微藻被称为自养微藻。限制自养微藻生长的一个最主要因子是提高光能的利用率，利用封闭式光生物反应器培养微藻，其主要目的是提高养殖表面积与水体的比例，以提高对光能的利用率，提高生产效率。

最简单的封闭式光生物反应器是使用透明的塑料袋作为养殖器具，用它们养殖微藻可比水泥池养殖效率提高一倍。另一类是管式光生物反应器，反应管通常由玻璃或透明的有机材料。管式光生物反应器形状有多种，有的是螺旋状，有的将反应管平行排列，平放在地上，或与地面成一定的倾角，管子的长度可达500米。此外还有板状的光生物反应器。

光生物反应器的光源除了利用太阳光外，还有使用人工光源，可以24小时供给光能，还可改变光源的波长，使之更符合微藻生长的需要。

光生物反应器培养微藻的主要优点是：①对光能的利用率比较高，因而具有较高的生产效率；②可得到较高的细胞密度，因而可获得较高的单位面积产量；③收集微藻所需的费用大大低于开放系统；④由于系统是封闭的，因而能比较好地防止杂藻和其它生物的沾污以及大气污染；⑤有利于保温，可以延长生产期；⑥能防止水分蒸发，这对干旱地区很有意义。

光生物反应器的缺点是，光线的穿透力有所降低，因为反应器的材料不可能是完全透明的，特别是上面落上灰尘或内部有生物附着时情况更严重，有人用循环的小球清除内表面可以得到一定的改善；反应器内氧浓度升高和夏季温度过高也是需要解决的问题，有人提出将封闭式的光生物反应器与开放的跑道式水池相连接，使在反应器中升高的温度循环到开放的水池中有所降低；另外，光生物反应器的成本比较高，但用它来生产附加值比较高的海洋生物活性物质还是很有前途的。

(2) 异养微藻的发酵法培养　有些微藻具有异养的特性，即可以直接利用糖类、脂类、蛋白质水解物、有机酸或其他形式的有机化合物以获取它们所需的能量和碳源，而不需要通过光合作用就能生长。有些自养生长的微藻也能进行异养生长，称之为兼养；也有些自养微藻通过诱导会产生异养生长的能力。人们可以利用这些异养或兼养的特性，采取像酵母和细菌发酵一样的方法来培养微藻。

发酵法培养的缺点是：①能够进行异养的微藻种类不多，目前发现可进行异养又有

商业价值的微藻只有少数几种;②能在异养中用作营养素的有机化合物的种类也有限,只有葡萄糖和醋酸盐等几种;③通过异养生长难以得到某些只有光诱导下才能合成的产物;④培养液中的有机物过高以及微藻产生的有毒代谢产物也会抑制微藻的生长,需要想办法解决。

2. 超临界流体萃取和超临界流体色谱技术

超临界流体萃取(SFE)技术是近20年来出现的一种新的分离工艺,其基本原理是,一种流体(气体或液体)当处在高于其临界温度和压力状态时,被称为超临界流体。超临界流体的密度接近液体,具有与液体溶剂相当的萃取能力,又具有与气体相近的低粘度,其扩散能力比液体大100倍,因而有利于传质。SFE就是利用超临界流体的上述性质,使之与待分离的固体或液体混合物相接触,从中萃取出感兴趣的物质,然后通过降压和/或升温的办法降低其密度,从而降低溶质在其中的溶解度,使被萃取物与溶剂分离。不同的物质在相同的萃取条件下溶解度是不同的。有的相差很大,通过这种差异则有可能将它们进一步彼此分开。超临界流体色谱(SFC)技术是对SFE技术的发展,它是在萃取器中填充某种介质使之成为层析柱,用超临界流体作为流动相,对样品进行分离。

SFE和SFC技术已经成功地用来从海洋生物中分离提取EPA和DHA等海洋生物活性物质。该方法与常规的分离过程相比,具有操作简便,萃取效率高,产品中无有毒溶剂残留,没有废物排放不会造成环境污染,萃取中通常使用二氧化碳作萃取剂,价廉、易得、无毒、安全,还可以循环使用,大大降低成本,另外萃取一般不需在高温下操作,而且与空气和光隔离,特别适合分离热敏性和易氧化的物质。该技术的缺点是设备一次性投资较大。我们利用通用的超临界萃取装置,进行超临界色谱分离,一次性萃取分离就获得EPA和DHA含量70%以上的产品,操作非常简单,产品率比分子蒸馏技术高1/3～1/2。国外利用超临界色谱技术,已经获得了DHA纯度达99%以上的产品,这在其它技术是望尘莫及的。

3. 分子蒸馏技术

分子蒸馏技术是另一种新的分离技术,其基本原理是,当液体受热时,接受到足够能量的分子会从液面逸出成为气体分子,而液体中分子量不同的物质,其气体分子在真空中的平均自由程不同,轻分子的平均自由程大,重分子的平均自由程小。若在离液面小于轻分子平均自由程而大于重分子的平均自由程处设置一冷凝面,使得轻分子落在冷凝面上被收集分离出来,重分子因达不到冷凝面而返回原来的液体中,这样通过调节不同的温度则可以将不同分子量的物质逐步分离开来。

与真空蒸馏相比,分子蒸馏的操作温度低,例如某混合物在真空蒸馏中需250℃,而分子蒸馏仅为130℃;二是受热时间短,真空蒸馏物料受热时间需用1小时的,分子蒸馏仅为几十秒;三是分离程度高,能分离真空蒸馏不易分开的物质。因此分子蒸馏对于高沸点和热敏性及易氧化物料的分离,有常规方法不可比拟的优点,能较好地保证物料的天然品质。

分子蒸馏在海洋生物活性物质研究和开发中,可以用来分离提纯海洋动植物油脂、高度不饱和脂肪酸、某些维生素等。最近北京化工大学研制成功的分子蒸馏装置,率先在国内投入了工业化生产,填补国内空白,并成功地用于分离浓缩EPA和DHA、α-亚麻酸和维生素A等,产品质量较高。

4. 灌注层析技术

海洋生物活性物质的分离纯化中常常用到层析技术,而常规的层析技术,甚至高压液相层析技术,用于生物活性物质的分离纯化都是一件极其费时和繁琐的事,近年来出现的灌注层析技术在这方面有了突破性的进展。灌注层析的关键技术是灌注填料技术。在层析中,分子是靠扩散而传递到填料颗粒内

部,而扩散是一个缓慢的过程,当流速增加时,在填料颗料内部的扩散不充分,会损失柱容量和分辨率。灌注层析技术则解决了这一难题,它所使用的填料(POROS)与常规的填料不同,它具有贯穿颗粒的孔,孔上又有许多扩散孔,流动相可以通过介质的内表面,即直接贯注入介质的颗粒中,使得颗粒内部反应面积大大增加,既能快速分离,又不降低柱容量和分辨率,是当代生物分子分离的重大突破。用灌注层析进行分离比常规的高压液相层析通常高10～100倍。

三、加快开发的几点看法

(1)首先必需考虑资源是否丰富。再好的东西没有资源也是白搭。已有量大的资源,如低值鱼类、贝类、大型藻类、水产品加工副产品和废弃物中的生物活性物质应是当前开发的重点;另外能通过人工大量培养的生物中活性物质也要予以重视,如海洋微藻等。我国一些低值小型贝类产量大,经济价值不高,还可以通过滩涂底播增值,其中又含有多种生物活性物质,应该很好地予以研究和开发。

(2)开发海洋生物活性物质应先易后难,远近结合。一般来说搞海洋药品难度是相当大的,搞出一个一类新药通常需要5～8年或者更长时间,要花费大量的经费,而搞食品和保健食品相对要容易些。我们认为,对一般的研究机构或企业,宜先开发海洋食品,进而发展成保健品,如有可能,再在此基础上发展成药品。但从国家来说,既要重视海洋食品和保健品的开发,又要安排一些重点研究机构和实力较强的企业着重进行海洋药品的研究和开发。

(3)认真搞好产学研的结合。这个问题已讲了多年,但解决的并不理想,其主要原因是有关各方都不同程度的存在着思想障碍。最近听某高校一位负责同志议论这一问题,他说知识分子中也存在着小农思想,老是怕别人占他的便宜,不愿发挥各方面的力量,把自己圈在一个小圈子里。这种看法是有道理的。企业方面存在的障碍是,对科学技术是第一生产力的认识尚有很大差距。目前我国的科研机构中,有很多成果就像锅中即将煮熟饭一样,还需稍加一把“火”才能完全煮熟,但很多企业不愿添加这把“火”,使不少科研成果只好长期闷在锅里而揭不开盖。还有些企业,特别是有些乡镇企业,在与科研单位合作中不讲信誉,订合同时讲的很漂亮,姿态很高,但当成果投产后,有的就不很好履行合同,特别是对技术入股的方式,即使赚了不少钱,但帐面上却盈利微微,甚至亏本,更有甚者,有的在项目成功之后将成果科研单位一脚踢开,连合同中承诺的技术转让费也赖着不给,致使不少科研单位不敢跟乡镇企业打交道。对此我们是深有体会的。

(4)重视市场分析,防止一窝蜂。中国人有个毛病,喜欢一窝蜂,本来是一个好项目,但往往由于不重视市场调研和分析,一窝蜂地盲目上,结果不少企业因此而亏损,甚至倒闭。这种例子很多,譬如EPA和DHA,现在全国可能有几十家甚至上百家生产鱼油制品,不少企业产品卖不出去,停产,甚至倒闭;螺旋藻现在也如此,仅仅短短的几年,全国就上了几十家,很快螺旋藻就过剩了;甲壳素搞的也很多;补钙制品更是星罗棋布。一窝蜂的结果是产量过剩,同时不可避免的是,不少单位技术水平跟不上,产品质量差,又一窝蜂地涌向市场,搅乱了市场,好的也跟着遭殃。

(5)要实事求是地、科学地进行广告宣传。实事求是就是不要过分地夸大产品的功能,否则物极必反,消费者就不会相信,甚至产生逆反心理,其结果是自我毁灭,这种例子在我国也不少;科学宣传就是要想办法使消费者真正懂得其功效,只有懂了才能相信,才愿意买。 □