

· 综述 ·

褐藻中岩藻聚糖硫酸酯构效关系研究进展

彭雍博, 汪秋宽*, 宋悦凡, 刘舒, 胡月, 宋泽

(大连海洋大学食品科学与工程学院, 国家海藻加工技术研发分中心, 辽宁水产品加工及综合利用重点实验室, 辽宁大连 116023)

[摘要] 褐藻是海洋生物活性物质的重要来源,岩藻聚糖硫酸酯(fucoidan)作为一种主要分布于褐藻细胞壁基质中的水溶性硫酸化杂多糖,已被证明具有抗氧化、抗凝血、抗炎症、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节、降血糖等生物活性,但褐藻中岩藻聚糖硫酸酯结构复杂多样,呈现出生理活性的多样性。天然岩藻聚糖硫酸酯相对分子质量大、结构复杂,对多样化的结构解析和构效关系研究缺乏系统性,以至于岩藻聚糖硫酸酯研究进展缓慢、国际认可程度较低,推广与应用受到制约。因此通过整合现有研究成果,推断岩藻聚糖硫酸酯功能性结构,并对其展开系统性的研究与调查,是岩藻聚糖硫酸酯的药用开发进程中不可或缺的关键步骤。基于以上考虑,该文通过CNKI, Pubmed, ScienceDirect等数据库对国内外有关褐藻岩藻聚糖硫酸酯结构研究现状、解析方法、结构修饰以及构效关系研究进行整理,并对岩藻聚糖硫酸酯构效关系深入研究进行展望,以期对岩藻聚糖硫酸酯结构功能作用研究、活性作用机制阐明、医药及保健产品开发提供参考。

[关键词] 褐藻; 岩藻聚糖硫酸酯结构; 解析方法; 构效关系

[中图分类号] R284.1; R22; R2-03 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)05-0203-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018050203

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171114.1106.012.html>

[网络出版时间] 2017-11-14 11:06

Research Advances in Structure-activity Relationship of Fucoidan from Brown Algae

PENG Yong-bo, WANG Qiu-kuan*, SONG Yue-fan, LIU Shu, HU Yue, SONG Ze

(College of Food Science and Engineering, Nation R&D Branch Center for Seaweed Processing, Key and Open Laboratory of Aquatic Product Processing and Utilization of Liaoning Province, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

[Abstract] Brown algae is an important source of marine bioactive substances, and fucoidans is a kind of water-soluble heteropolysaccharide mainly in the cell wall matrix of brown algae, which has been proved to have a variety of biological activities, including anti-oxidation, anticoagulant, anti-inflammation, anti-viral, anti-tumor, immune regulation, hyperglycemic, and other activities. However, the structure of algal polysaccharide sulfate in brown algae is complex and diverse, presenting the diversity of physiological activity. Natural fucoidan has a large molecular weight, complex structure, and the research on the structural analysis and structure-effect relationship of diversity is not deep enough, so that the research progress is slow, with low international recognition, and the application and popularization are severely restricted. Therefore, it is an indispensable key step in drug development to deduce the functional structure of fucoidan by integrating the existing research results and systematical research and investigation. Based on these considerations above, the research status of structures, analytical methods of structures, structural modification, and structure-activity relationship were reviewed through

[收稿日期] 20170712(025)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31471610)

[第一作者] 彭雍博, 硕士, 从事海洋生物活性物质研究工作, E-mail: pengyongbo2011@126.com

[通信作者] *汪秋宽, 硕士, 教授, 从事水产品加工及综合利用工作, Tel: 0411-84763181, E-mail: wqk320@dlou.edu.cn

CNKI, Pubmed, ScienceDirect databases, and the deep research on structure-activity relationship was prospected, aiming to provide a reference for the further study in functional structures and action mechanism of fucoidan structure, as well as for development of medicine and health care product.

[Key words] brown algae; fucoidan structure; structures analysis; structure-activity relationship

褐藻是海洋生物活性物质的重要来源,其中海带 (*Laminaria japonica*), 昆布 (*Ecklonia kurome*), 羊栖菜 (*Hizikia fusiformis*) 等大型褐藻的药用价值在《本草纲目》等古医书中已有记载。而岩藻聚糖硫酸酯作为一种主要分布于褐藻细胞壁基质中的水溶性硫酸化杂多糖^[1], 虽然大量的药理及临床研究已证明, 其具有抗氧化^[2]、抗凝血^[3]、抗炎症^[4]、抗病毒^[5]、抗肿瘤^[6]、免疫调节^[7]、降血糖^[8]等生物活性; 但不同来源的岩藻聚糖硫酸酯, 立体结构、生物活性差异显著, 且目前缺乏系统的构效关系研究, 极大限制了对岩藻聚糖硫酸酯药用价值的开发利用。近年来, 国内外对岩藻聚糖硫酸酯的活性差异及作用机制进行了研究, 发现不同的褐藻种类、藻龄、产地、收获季节、提取方式, 会导致岩藻聚糖硫酸酯结构发生改变, 进而表现出生物学活性的差异^[9-11]。本课题组在前期的研究也表明, 岩藻聚糖硫酸酯的相对分子质量、单糖组成、硫酸基 (SO_4^{2-}) 含量是影响其降血脂^[12]、抗肿瘤^[13]等活性的关键因素。因此通过整合现有研究成果, 推断岩藻聚糖硫酸酯功能性结构, 并对其展开研究与调查, 是岩藻聚糖硫酸酯的药用开发进程中不可或缺的关键步骤。本文从褐藻岩藻聚糖硫酸酯结构研究现状、解析方法出发, 探讨构效关系及其活性作用机制, 并对岩藻聚糖硫酸酯构效关系研究进行展望, 以为岩藻聚糖硫酸酯医药及保健产品开发提供参考。

1 岩藻聚糖硫酸酯结构研究现状

褐藻岩藻聚糖硫酸酯早期被认为是一种由 *L*-岩藻糖和 SO_4^{2-} 组成的单一结构化合物, 随着研究的不断深入发现岩藻聚糖硫酸酯还含有丰富的半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸等, 是具有不同化学组分的一族化合物^[14-15]。此外作为一种天然化学物质, 其相对分子质量分布范围广^[16], 一般为 1 ~ 1 000 kDa, 主要结构单元是硫酸化的 *L*-岩藻糖, 其分子式是 $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7\text{S})_n$ 。硫酸化 *L*-岩藻糖结构单元是由 C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 及 1 个氧杂原子形成的吡喃糖环, 并在 C_5 位置链接有 1 个甲基 (C_6), 在 C_2 , C_3 , C_4 位置链接有羟基 (OH) 或 SO_4^{2-} 基团^[17]。从褐藻中提取的岩藻聚糖硫酸酯主要具有强负旋光值, 为 α -*L* 构

型, 仅有极少数具有正旋光值, 为 β -*D* 构型^[18]。研究也证明褐藻岩藻聚糖硫酸酯主链及侧链糖苷键均由岩藻糖、半乳糖及少量的其他单糖通过 (1→2), (1→3) 和 (1→4)-(C-C 连接) 3 种形式链接, 其中岩藻糖间连接是最主要的形式^[19-20]。

SO_4^{2-} 基团是影响多糖生物学活性表达的主要官能团, 同样褐藻岩藻聚糖硫酸酯中 SO_4^{2-} 的数量、链接位置对岩藻聚糖硫酸酯的生物学活性至关重要^[21]。*L*-岩藻糖结构单元一般仅能够链接 1 个 SO_4^{2-} 基团, 但也有些褐藻岩藻聚糖硫酸酯能带有 2 个 SO_4^{2-} 基团, 或未被 SO_4^{2-} 基团取代^[9]。对 SO_4^{2-} 基团取代位置的研究发现, 虽然在 *L*-岩藻糖结构单元中 C_2 , C_3 , C_4 位置中均能被 SO_4^{2-} 基团取代, 但 C_2 与 C_4 是主要的链接位置^[22-23]; 此外 SO_4^{2-} 基团还能链接于半乳糖上, 形成褐藻半乳糖聚糖硫酸酯, 此研究多发现于马尾藻岩藻聚糖硫酸酯^[24]。而 OH 基团虽然也是吡喃糖环上常见的取代官能团, 通常并未将其作为构效关系研究的重点方向; 但在多糖的分子修饰和结构改造时, 常将羟基运用物理、化学方法进行修饰, 以提高多糖的生物活性^[25]。

2 岩藻聚糖硫酸酯结构解析及修饰

2.1 气相色谱法 (gas chromatography, GC)

GC 是以气体为流动相的柱色谱法, 根据所用固定相状态的不同可分为气-固色谱 (GSC) 和气-液色谱 (GLC)。钟思燕等^[26]采用 GC 技术分析围氏马尾藻 (*Sargassum fucoidan*) 岩藻聚糖硫酸酯 4 种分离组分单糖组成发现, 4 种组分均由岩藻糖、甘露糖、木糖、鼠李糖、葡萄糖和半乳糖组成, 但各组分的单糖含量不同。刘舒^[27]对多肋藻 (*Costaria costata*), 日本真海带 (*L. japonica*) 与厚叶解曼藻 (*Kjellmaniella crassifolia*) 3 种岩藻聚糖硫酸酯通过 GC 技术分析其单糖组成, 结果证明 3 种褐藻岩藻聚糖硫酸酯也均是由岩藻糖、半乳糖、甘露糖及少量的木糖、葡萄糖 5 种单糖组成。同时, 两项研究都发现 GC 技术在应用于岩藻聚糖硫酸酯单糖组成分析时, 易出现图谱重叠、分离度低等现象。

2.2 高效液相色谱法 (high performance liquid chromatography, HPLC)

HPLC 是一种基于混合物中各组分对两相亲和力的差别, 对物质进行分离的

技术^[28]。WANG 等^[29]研究海带 (*S. japonica*) 岩藻聚糖硫酸酯单糖组成的结果表明, HPLC 技术能对岩藻糖、半乳糖、甘露糖、葡萄糖、阿拉伯糖以及木糖和半乳糖醛酸等多种单糖达到有效分离。而张海霞等^[30]应用 HPLC 研究马尾藻岩藻聚糖硫酸酯不同分离组分的单糖组成时发现, 液相色谱不仅能对半乳糖、岩藻糖、甘露糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖和木糖具有较好分离效果, 对甘露糖同分异构体的分离提供了可能性。由此可知, 液相色谱法相较于气相色谱法, 由于出峰效果清晰、信息量大、分离度高、无拖尾现象, 且重复性好, 更适宜应用于岩藻聚糖硫酸酯单糖组成分析。

2.3 傅里叶红外光谱法 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR) FTIR 应用于褐藻岩藻聚糖硫酸酯的结构分析, 是因为受到红外光照射时不同的化学键或官能团吸收频率不同, 从而可以获得岩藻聚糖硫酸酯相关化学键和官能团的信息^[26]。Marudhupandi 等^[31]研究小叶喇叭藻 (*Turbinaria conoides*) 岩藻聚糖硫酸酯结构指出, 在 $2\ 926\text{ cm}^{-1}$ 附近具有特征吸收峰, 应为岩藻糖中甲基上的 C-H 伸缩振动; $1\ 249\text{ cm}^{-1}$ 附近出现振动, 是 SO_4^{2-} 基团中的非对称 O=S=O 伸缩振动; $1\ 028\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰则是岩藻糖中的 C-C 和 C-O 结构, 以及糖苷键骨架中的 C-O-C 结构。Synytsya 等^[32]分析裙带菜 (*Undaria pinnatifida*) 岩藻聚糖硫酸酯红外色谱图的结果表明, $1\ 452\text{ cm}^{-1}$ 区域出现振动是由于岩藻糖或氧乙酰基中的 CH_3 非对称弯曲振动存在引起。Bilan 等^[8,33]则在研究齿缘墨角藻 (*Fucus serratus*) 岩藻聚糖硫酸酯时发现, 在 820 cm^{-1} 附近有伸缩振动, 说明有 C-O-S 存在, 另可以初步判断 SO_4^{2-} 基团链接于岩藻糖的 C_4 位置; 而伸缩振动在 $840\sim 850\text{ cm}^{-1}$ 附近, 表明 C-O-S 存在且 SO_4^{2-} 基团链接于 C_2 或 C_3 位置。此外, 也有研究指出在 $3\ 427\sim 3\ 404\text{ cm}^{-1}$ 附近出现吸收峰, 应为 O-H 伸缩振动; $1\ 610\sim 1\ 620\text{ cm}^{-1}$ 有吸收峰表示岩藻聚糖硫酸酯中有糖醛酸存在^[34]。这些研究结果证明, 岩藻聚糖硫酸酯具有特征红外光谱, 可以应用于岩藻聚糖硫酸酯的品质快速鉴定, 还能对其 SO_4^{2-} 基团链接位置进行初步推断。

2.4 核磁共振波谱法 (nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR) NMR 是研究原子核对射频辐射的吸收, 可以对岩藻聚糖硫酸酯的成分、结构进行定性分析, 其中一维核磁 (1D NMR) 中的 ^1H 谱, ^{13}C 谱和二维核磁 (2D NMR) 的同核位移相关谱、碳氢

相关谱在岩藻聚糖硫酸酯结构研究中得到广泛应用。

2.4.1 1D NMR Saha 等^[23]对狭叶海带 (*L. angustata*) 岩藻聚糖硫酸酯 ^1H 谱研究结果证明, $5.10\sim 5.50\text{ ppm}$ 区域是 $\alpha\text{-L}$ -岩藻糖中的端头质子 (H_1), $3.60\sim 4.50\text{ ppm}$ 的化学位移应是环质子 ($\text{H}_2\sim\text{H}_5$) 信号, H_6 的化学位移出现在 1.30 ppm 是因为岩藻聚糖硫酸酯中存在 (1 \rightarrow 3)-连接的岩藻糖糖苷键。Marudhupandi 等^[35]研究喇叭藻 (*Tu. ornata*) 岩藻聚糖硫酸酯时则认为 $3.50\sim 4.50\text{ ppm}$ 区域的化学位移信号是 H_4 位置上的甲氧基质子; 此外他们发现由于 C_3 位置有半乳吡喃糖存在, 喇叭藻岩藻聚糖硫酸酯在 4.70 ppm 处出现特殊信号。另有研究指出, H_1 出现在 $1.83\sim 2.34\text{ ppm}$ 表明岩藻糖中烷基附带磺酰质子, 1.38 ppm 化学位移处有 H_6 信号则是因为烷烃质子存在于 2 个甲基基团中^[31]。

^{13}C -NMR 谱由于可以减少谱线的重叠, 谱图更加清晰, 同时可以获得更多的化学物质结构信息, 在结构研究中应用范围更广泛。Synytsya 等^[36]研究裙带菜岩藻聚糖硫酸酯 ^{13}C 谱的结果表明, 化学位移在 22.20 ppm 和 $174.60\sim 176.80\text{ ppm}$ 为氧乙酰基, $101.40\sim 105.60\text{ ppm}$ 是 L -岩藻糖中的异头碳。WANG 等^[37]对多肋藻 (*C. costata*) 岩藻聚糖硫酸酯的 4 种分离组分 (F1~F4) 结构研究发现, F1, F3, F4 在 $16.50\sim 18.50\text{ ppm}$ 处均有信号, 经分析这是 $\alpha\text{-L}$ -岩藻吡喃糖基上的甲基信号, $\text{C}_2\sim\text{C}_5$ 的化学位移分布区域为 $65.00\sim 83.00\text{ ppm}$; 此外他们的研究也发现 F2 组分由于受到甘露吡喃糖干扰, 在 100.40 ppm 处有特征化学信号。Eluvakkal 等^[38]则选取围氏马尾藻 (*S. wigtii*) 岩藻聚糖硫酸酯作为研究对象, ^{13}C 谱分析证明围氏马尾藻岩藻聚糖硫酸酯在 77.35 ppm 和 $82.92\sim 99.86\text{ ppm}$ 处有化学信号, 这是因为在主链的 C_1 和 C_6 位置处链接有半乳吡喃糖。

虽然 ^1H 谱和 ^{13}C 谱在褐藻岩藻聚糖硫酸酯研究中, 已经取得大量的研究成果, 但将二者结合起来则更有助于对岩藻聚糖硫酸酯结构的解析。Bilan 等^[39]研究两列墨角藻 (*F. distichus*) 岩藻聚糖硫酸酯证明, 由于 C_2 位置 SO_4^{2-} 基团的存在, 会导致岩藻聚糖硫酸酯中 L -岩藻糖的 H_2 和 C_2 化学位移发生偏移, 分别为 0.90 ppm 和 14.97 ppm 。Lim 等^[40]通过将宾得马尾藻 (*S. binderi*) 岩藻聚糖硫酸酯 C_1 化学位移 104.07 ppm 和 H_3 化学位移 3.74 ppm 结合分析, 确定了骨架结构为 (1 \rightarrow 3)-连接 $\alpha\text{-L}$ -岩藻吡

喃糖糖苷键;此外,他们在研究中还准确的分析出宾得马尾藻岩藻聚糖硫酸酯 $H_1 \sim H_6$ 和 $C_1 \sim C_6$ 的化学位移。

2.4.2 2D NMR 2D NMR 应用于大相对分子质量的岩藻聚糖硫酸酯结构鉴定,可将多糖化学位移、偶合常数等参数展开在二维平面上,减少了谱线的重叠,而且可以反映出 H-H, C-C, H-C 之间耦合作用以及空间相互作用,进而确定单糖间连接方式和多糖空间构型^[41]。Bilan 等^[42]通过 2D NMR 技术检测鞭状索藻 (*Chordaria flagelliformis*) 岩藻聚糖硫酸酯结构结果显示,该多糖主要由 (1→3)-连接的 α -L-岩藻吡喃糖构成主链结构,其中 1/3 的 C_2 位置被 α -D-吡喃葡萄糖醛酸糖基化,接近 1/2 的 C_4 位置被 α -L-岩藻吡喃糖单糖、二糖及其硫酸化结构取代;同时二维图谱也显示, SO_4^{2-} 基团主要链接于主链结构的 C_2 和 C_4 位置,且部分 C_4 位置发生乙酰化反应。Shiroma 等^[43]采用 2D NMR 技术分析羊栖菜岩藻聚糖硫酸酯指出,羊栖菜岩藻聚糖硫酸酯的主链结构同样为 (1→3)-连接的 α -L-岩藻吡喃糖,但 C_4 位置存在由岩藻糖和半乳糖组成的 2 种不同的支链结构;研究也发现羊栖菜岩藻聚糖硫酸酯的岩藻糖结构单元中 1/2 的羟基基团被 SO_4^{2-} 基团取代。

综上所述, SO_4^{2-} 基团链接位置、侧链单糖种类及连接位置、主链糖苷键连接方式均会对岩藻聚糖硫酸酯的 1H 谱和 ^{13}C 谱化学位移产生偏移;而且核磁共振波谱法中 1D NMR 技术在一级结构解析中具有较大优势,2D NMR 技术更适宜用于立体结构解析,将两者结合应用于岩藻聚糖硫酸酯结构分析具有较大发展空间。

2.5 高分辨质谱法 (mass spectrometry, MS) MS 是用电场和磁场将运动的离子,按质荷比分离进行检测的方法,可以准确测出离子质量从而确定化合物组成,但受到高分子质量限制,MS 技术一般不直接应用于岩藻聚糖硫酸酯结构研究^[44]。气相色谱-质谱联用技术 (GC-MS) 多用于 300 °C 以下,酯化后能气化的中低相对分子质量岩藻聚糖硫酸酯, Lim 等^[40]利用 GC-MS 技术对宾得马尾藻的单糖组成进行检测与分离,结果表明宾得马尾藻岩藻聚糖硫酸酯由岩藻糖、半乳糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和葡萄糖醛酸组成。高效液相色谱-质谱联用技术 (HPLC-MS) 技术常用于 300 °C 不能气化的水溶液或甲醇溶液,以及相对分子质量较高的岩藻聚糖硫酸酯结构研究, YU 等^[45]采用 HPLC-MS 对 8 种岩藻聚糖硫酸酯低聚寡糖进行分离,结果证明 HPLC-MS 对岩藻聚

糖硫酸酯三糖和四糖的离子电流强度明显高于其他低聚寡糖,能够达到有效分离。

电子轰击离子源-质谱联用法 (EI-MS) 常用于检测相对分子质量 < 800 Da 的化合物,其碎片离子信息多,利于猜测化合物母核。WANG 等^[46]在分析羊栖菜岩藻聚糖硫酸酯中分离的高糖组分 (YF5) 结果表明, ES-CID-MS/MS 技术相较于 NMR 技术,不仅能准确分析出其结构骨架中结构单元,还能清晰地判断出侧链结构和 SO_4^{2-} 基团链接位置。电喷雾离子化质谱技术 (ESI-MS) 作为一种软电离方式,图谱给出的碎片离子少,可以得到确切相对分子质量,用于高分子质量化合物结构分析。Yuguchi 等^[47]采用 ESI-MS 技术对厚叶马尾藻 (*S. crassifolium*) 和南方团扇藻 (*Padina australis*) 岩藻聚糖硫酸酯的结构进行解析,研究发现厚叶马尾藻岩藻聚糖硫酸酯侧链中含有半乳吡喃糖,通过 (1→4)-连接于主链 L-岩藻吡喃糖的 C_4 位置,而南方团扇藻岩藻聚糖硫酸酯的侧链多是硫酸化的半乳糖-岩藻糖二糖或硫酸化的半乳糖吡喃糖通过 (1→3)-及 (1→4)-连接于主链结构。而基质辅助激光解吸飞行时间质谱技术 (MALDI-TOF-MS) 具有准确度高、灵敏、快速等特点,对杂质包容性强,分析质量分布范围大,能对未衍生化的岩藻聚糖硫酸酯直接分析^[48]。Anastyuk 等^[49]通过 MALDI-TOF-MS 技术研究发现,白氏鹿角菜 (*Silvetia babingtonii*) 和 枯墨角藻 (*F. evanescens*) 岩藻聚糖硫酸酯结构相似,仅在其低聚寡糖片段聚合度 (DP) 中存在轻微差异,他们推测这是因为枯墨角藻岩藻聚糖硫酸酯中具有 (1→4)-连接岩藻糖结构单元且在 C_3 位置链接有 SO_4^{2-} 基团,而白氏鹿角菜岩藻聚糖硫酸酯的 SO_4^{2-} 基团主要链接于 C_2 位置;此外枯墨角藻岩藻聚糖硫酸酯中少量存在的 (1→3)-连接岩藻糖结构可能也会对聚合度造成差异,同样的结论在丝状分枝褐藻 (*Coccophora langsdorfii*)^[50] 的研究中也有报道。这些研究表明,质谱及其联用技术不仅可以有效分离岩藻聚糖硫酸酯单糖及寡糖结构,还可以应用于准确分析岩藻聚糖硫酸酯结构单元、多糖聚合度差异。

2.6 人工修饰及生物合成 岩藻聚糖硫酸酯固然有多种生物活性,但从褐藻中提取的天然岩藻聚糖硫酸酯生物利用率较低,因此需要通过修饰或人工合成改变多糖中的官能团甚至结构,从而大幅度提升天然多糖的活性。WANG 等^[51]分别制备出过硫酸化、乙酰化和苯甲酰化的岩藻聚糖硫酸酯,活性检验结果显示 3 种方法修饰后的岩藻聚糖硫酸酯抗氧

化能力均高于天然产品,特别是苯甲酰化的岩藻聚糖硫酸酯,其具有最高的抗氧化能力。Lira 等^[52]则通过喇叭藻岩藻聚糖硫酸酯合成出负载有银离子的岩藻聚糖硫酸酯纳米微粒,体外抑菌结果表明,1 mmol·L⁻¹的合成药物就能有效抑制体外细菌生长,且对革兰氏阴性菌的抑制效果优于革兰氏阳性菌。另有研究^[53]以三甲基硅保护的岩藻糖基碘作为糖给体,以三乙胺作为反应促进剂,合成了以单一的 α -糖苷键结合的三糖;抗肿瘤实验结果发现合成的岩藻聚糖硫酸酯寡糖对多种肿瘤细胞均有抑制作用,其中对胃癌细胞 BGC-823 的抑制效果最好,最低存活率低于 20.00%。综上研究证明,利用物理、化学法对岩藻聚糖硫酸酯结构进行修饰或生物合成技术人工合成,对于开发生物利用度高、活性作用强的低聚岩藻聚糖硫酸酯医疗保健药物可行性较高,这将会极大挖掘岩藻聚糖硫酸酯的开发潜力。

3 岩藻聚糖硫酸酯构效关系及其应用

3.1 抗氧化 王莹等^[54]比较酶解前后海带岩藻聚糖硫酸酯对 D-半乳糖氧化损伤小鼠的抗氧化作用发现,低相对分子质量的岩藻聚糖硫酸酯酶解产物对小鼠血清和肝脏组织的抗氧化活力均优于高相对分子质量的岩藻聚糖硫酸酯,具有显著的体内抗氧化作用。Lim 等^[55]则分别采用伽马射线和酸降解的墨角藻岩藻聚糖硫酸酯发现,伽马射线降解的岩藻聚糖硫酸酯具有较高的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 清除能力,这是因为酸降解导致多糖中的 SO₄²⁻ 含量显著降低。而 Ajisaka 等^[56]在分析 5 种不同褐藻岩藻聚糖硫酸酯抗氧化活性规律时指出,SO₄²⁻ 含量并不是影响岩藻聚糖硫酸酯抗氧化能力的唯一因素,其抗氧化能力还受到 SO₄²⁻ 基团链接位置、侧链单糖组成及其连接方式、分子量等多因素共同影响。综上研究证明,褐藻岩藻聚糖硫酸酯抗氧化活性与相对分子质量,SO₄²⁻ 含量及位置、侧链单糖组成和侧链糖苷键存在一定的构效关系。

3.2 抗肿瘤 早期研究认为低相对分子质量的多糖一般具有更高的抗肿瘤活性,但蔡璐等^[57]研究马尾藻岩藻聚糖硫酸酯对肺癌 A549 细胞抑制活性时发现,岩藻聚糖硫酸酯的抗肿瘤活性是在一定的相对分子质量范围呈现的,过度降解的马尾藻岩藻聚糖硫酸酯,其对肿瘤细胞抑制活性显著降低。Cho 等^[58]将降解后的裙带菜岩藻聚糖硫酸酯与天然岩藻聚糖硫酸酯通过化学法添加 SO₄²⁻ 后,分别研究了二者体外人胃腺癌细胞 (AGS) 抑制活性,结果表明降解后的岩藻聚糖硫酸酯糖苷键骨架结构松散,

更容易链接 SO₄²⁻ 基团,并具有较高的细胞抑制活性。而 Vishchuk 等^[59]研究指出昆布 (*S. cichorioides*) 岩藻聚糖硫酸酯由于具有高度硫酸化的 (1→3)- α -L-岩藻吡喃糖结构,能显著抑制小鼠表皮细胞 (JB6 Cl41) 肿瘤转化,进一步证明了结构单元及 SO₄²⁻ 基团在岩藻聚糖硫酸酯抗肿瘤活性表达过程中的关键作用。Shevchenko 等^[60]在比较海带 (*S. gurjanovae*) 岩藻聚糖硫酸酯及其衍生物 SgF-AH25-H 对结肠癌细胞 DLD-1 体外抗肿瘤结果表明,2 种不同结构的岩藻聚糖硫酸酯未表现出显著的细胞抑制差异,他们分析认为酸水解虽然能显著降低 SgF-AH25-H 中 C₂ 位置链接的 SO₄²⁻ 数量和清除侧链半乳糖残基,但对 C₄ 位置链接的 SO₄²⁻ 无影响,因此 C₄ 位置的 SO₄²⁻ 可能是褐藻岩藻聚糖硫酸酯发挥抗肿瘤作用的活性官能团。Anastyuk 等^[61]研究枯墨角藻岩藻聚糖硫酸酯对人黑色素瘤细胞 (SK-MEL-28) 体外抗肿瘤活性结果发现,低相对分子质量的岩藻聚糖硫酸酯对 SK-MEL-28 细胞的抑制率相较于天然的岩藻聚糖硫酸酯高 70%,分析认为枯墨角藻岩藻聚糖硫酸酯的抗肿瘤活性主要取决于相对分子质量,SO₄²⁻ 比率和岩藻聚糖硫酸酯主链或支链中 (1→4)- α -L-岩藻吡喃糖结构。总结可知,岩藻聚糖硫酸酯的抗肿瘤活性需要在一定的相对分子质量范围内展现,同时具有较高的 SO₄²⁻ 含量,C₄ 位置的 SO₄²⁻ 结构,(1→3)- α -L-岩藻吡喃糖和 (1→4)- α -L-岩藻吡喃糖结构能有效提升褐藻岩藻聚糖硫酸酯抗肿瘤效果。

3.3 抗炎症及抗病毒 Cumashi 等^[62]在早期研究中指出,岩藻聚糖硫酸酯中岩藻糖,SO₄²⁻ 含量及多糖结构对炎症抑制没有显著的影响。但 Lee 等^[63]发现腔昆布 (*E. cava*) 岩藻聚糖硫酸酯的 3 种分离纯化组分 F1, F2 和 F3,可以通过促进肿瘤坏死因子 (TNF- α), 白介素 (IL)-6, IL-1 β 分泌和下调 iNOS, COX-2 基因的表达发挥抗炎活性,而且这种炎症抑制作用随着岩藻聚糖硫酸酯相对分子质量的降低,效果越显著。但目前仅有少量研究聚焦于岩藻聚糖硫酸酯结构与抗炎活性机制构效关系研究,仍有待进一步探索。

Rabanal 等^[64]关于不同分离组分的网地藻 (*Dictyota dichotoma*) 岩藻聚糖硫酸酯对单纯疱疹病毒 (HSV-1) 和柯萨奇病毒 (CVB3) 作用机制研究发现,岩藻糖和半乳糖含量高的岩藻聚糖硫酸酯具有病毒抑制活性,而木糖、甘露糖等单糖含量高的岩藻

聚糖硫酸酯未呈现出抑制活性。狭叶海带岩藻聚糖硫酸酯的结构特征与体外抗病毒活性关系的结果表明,不同分离组分的岩藻聚糖硫酸酯对 HSV-1 均具有较好的体外抑制活性,半数抑制浓度(IC_{50})分布范围为 $0.20 \sim 25.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而 SO_4^{2-} 含量是影响其抗病毒活性的重要参考标志^[23]。Lee 等^[65]对马尾藻(*S. trichophyllum*)岩藻聚糖硫酸酯的3种分离组分 ST-L, ST-A 和 ST-F 对2型疱疹病毒研究发现,仅有 ST-F 组分表现出显著的疱疹病毒抑制活性,这是因为 ST-F 中岩藻糖与半乳糖含量最高;且 ST-F 中含有(1→3)和(1→4)连接的岩藻糖以及(1→2)和(1→6)连接的半乳糖结构,而 ST-L, ST-A 结构骨架则存在大量的葡萄糖及甘露糖醛酸。综上说明,岩藻聚糖硫酸酯的抗病毒活性同样受到单糖组成, SO_4^{2-} 含量,多糖结构单元的影响。

3.4 抗凝血及抗血栓 Nishino 等^[66]的研究指出昆布岩藻聚糖硫酸酯相对分子质量在 $10 \sim 50 \text{ kDa}$,其抗凝血活性随相对分子质量的增加而上升。Chandía 等^[67]则发现雷松藻(*Lessonia vadosa*)中提取的岩藻聚糖硫酸酯具有较高的抗凝血活性,而其降解组活力却很弱。陈安进等^[68]考察4种相对分子质量岩藻聚糖硫酸酯的抗血栓形成作用时证明,不同相对分子质量的岩藻聚糖硫酸酯发挥抗血栓作用的调控途径也不同;整体上中大相对分子质量岩藻聚糖硫酸酯比低相对分子质量表现出更强的抗血栓活性。另外,早期研究也指出 SO_4^{2-} 含量越高,岩藻聚糖硫酸酯抗凝血效果越强^[69]。而赵雪等^[70]关于海带岩藻聚糖硫酸酯抗凝血活性实验证明,相对分子质量比 SO_4^{2-} 含量对抗凝血活性的影响更大,对于相对分子量相近的岩藻聚糖硫酸酯, SO_4^{2-} 含量越高抗凝血活性越高。另据 Silva 等^[71]报道,大团扇藻(*Padina gymnospora*)岩藻聚糖硫酸酯中的 α -L-岩藻吡喃糖 C_3 或 C_4 位置链接的 SO_4^{2-} 基团,是影响抗凝血活性表达的功能性结构。JIN 等^[72]比较了11种褐藻岩藻聚糖硫酸酯体外抗凝血效果则确认,抗凝血活性不仅与多糖相对分子质量有关,还与岩藻聚糖硫酸酯中岩藻糖和半乳糖单糖比率相关,岩藻糖和半乳糖比值在适当范围内时,岩藻聚糖硫酸酯才能表现出最强的抗凝活性。此外,ZHANG 等^[73]发现岩藻聚糖硫酸酯的抗凝血活性与其质量分散系数、结构非均质性、岩藻聚糖硫酸酯纯度有一定的关系。综上可知,大相对分子质量的岩藻聚糖硫酸酯抗凝血及抗血栓活性更强,且相对分子质量对药物活性影响强于 SO_4^{2-} 含量,而岩藻

糖与半乳糖单糖比率、多分散系数、非均质性、多糖纯度也会对治疗效果造成影响。

3.5 降血脂 谌素华等^[74]研究不同相对分子质量围氏马尾藻(*S. wigtii*)岩藻聚糖硫酸酯对高脂血症小鼠脂质代谢的影响发现,中相对分子质量岩藻聚糖硫酸酯组分对高脂血症小鼠降肝脏总胆固醇(TC),甘油三酯(TG)水平和动脉硬化指数(AI),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平调节效果均优于低相对分子质量组分。王亚芳等^[12]比较5种褐藻岩藻聚糖硫酸酯的降血脂实验结果表明,高 SO_4^{2-} 含量的羊栖菜岩藻聚糖硫酸酯和低 SO_4^{2-} 含量的裙带菜岩藻聚糖硫酸酯对高脂血症小鼠 TC, TG 和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平没有差异,而与其抗氧化能力密切相关。以上研究结果说明,相对分子质量能够影响岩藻聚糖硫酸酯体内降血脂活性,但 SO_4^{2-} 含量对降血脂作用影响不大。

3.6 其他 褐藻岩藻聚糖硫酸酯构效关系的研究还在其他几个方面取得了一定的成果,诸如抗衰老、抗胃溃疡、抗血管生成等。李小蓉等^[75]对海带岩藻聚糖硫酸酯抗衰老实验研究证明, SO_4^{2-} 含量、相对分子质量大小和单糖构成与抗衰老活性有关。袁松^[76]利用制备的低、中、高3种不同相对分子质量的海带岩藻聚糖硫酸酯进行大鼠抗胃溃疡实验结果说明,中相对分子质量海带岩藻聚糖硫酸酯对胃溃疡有较好的辅助治疗作用。陈焕君^[77]在研究羊栖菜和海蕴(*Nemacystus decipiens*)2种岩藻聚糖硫酸酯抗血管生成时发现,2种岩藻聚糖硫酸酯不仅在分子结构上不同,而且抑制血管生成的靶分子作用机制也差异显著。Clément 等^[78]则指出泡叶藻(*Ascophyllum nodosum*)岩藻聚糖硫酸酯寡糖的侧链糖苷键可以显著影响多糖的构象,进而显著影响其抗补体活性的发挥。见表1。

4 研究展望

褐藻中岩藻聚糖硫酸酯种类繁多,结构复杂多样,且结构又与生物活性密切相关,其药物活性多受相对分子质量的大小,单糖组成, SO_4^{2-} 含量及链接位置、主链及侧链糖苷键连接方式等多种因素的影响,从而呈现出生理活性的多样性;另外不同结构的岩藻聚糖硫酸酯其活性作用途径及机制也不相同。而现阶段虽然对岩藻聚糖硫酸酯一级结构的解析,已经建立了一套较为完整的分析方法,但这种构效关系的研究只是规律的揭示,难以准确阐述生物活性与多糖立体结构间的相关性,也难以在分子水平解释岩藻聚糖硫酸酯的活性作用机制。为理清岩藻

表 1 褐藻岩藻聚糖硫酸酯生物活性及其构效关系

Table 1 Biological activity and structure-activity relationship of fucoidan from brown algae

生物活性	构效关系
抗氧化	相对分子质量(小),SO ₄ ²⁻ 含量,SO ₄ ²⁻ 位置,侧链单糖组成,侧链糖苷键
抗肿瘤	相对分子质量(适中),SO ₄ ²⁻ 含量,SO ₄ ²⁻ 位置(C ₄),(1→3)或(1→4)-α-L-岩藻吡喃糖苷键
抗炎症	相对分子质量(小)
抗病毒	SO ₄ ²⁻ 含量,单糖组成,(1→3)或(1→4)-α-L-岩藻吡喃糖苷家,(1→2)或(1→6)-β-D-半乳糖苷键
抗凝血	相对分子质量(大),SO ₄ ²⁻ 含量,SO ₄ ²⁻ 位置(C ₃ 或 C ₄),质量多分散系数,结构非均质性,多糖纯度
抗血栓	相对分子质量(大)
降血脂	相对分子质量(大)
抗衰老	相对分子质量(大),SO ₄ ²⁻ 含量,单糖组成
抗胃溃疡	相对分子质量(适中)
抗血管生成	多糖结构
抗补体	侧链糖苷键

聚糖硫酸酯构效关系,还需从高级结构上进行解析。

除此之外,褐藻岩藻聚糖硫酸酯构效关系的研究尚缺乏一套成熟的标准研究体系。对此可以借鉴蛋白质的研究构建岩藻聚糖硫酸酯的研究框架,即首先使用分离、纯化技术获取均一组分,然后对均一组的理化性质测定及生物活性探索,最后开展结构测定及化学修饰、改造。同时也可以采用物理法、化学法或生物法将大分子的岩藻聚糖硫酸酯剪切成易于分析的小片段,再通过逐个研究其结构及生物活性,确定活性结构单元,以开发出价格低廉、生物利用度高、活性作用强的岩藻聚糖硫酸酯医药保健品,将极大挖掘岩藻聚糖硫酸酯的开发潜力。

[参考文献]

[1] Liewert I, Ehrig K, Alban S. Effects of fucoidans and heparin on reactions of neutrophils induced by IL-8 and C5a[J]. Carbohydr Polym,2017,165(1):462-469.
 [2] Phull A R, Majid M, Haq I U, et al. In vitro, and in vivo, evaluation of anti-arthritic, antioxidant efficacy of fucoidan from *Undaria pinnatifida*, (Harvey) Suringar [J]. Int J Biol Macromol,2017,97(6):468-480.
 [3] Ustyuzhanina N E, Ushakova N A, Preobrazhenskaya M E, et al. Fucoidans as a platform for new anticoagulant drugs discovery [J]. Pure Appl Chem, 2014, 86 (9) : 1365-1375.
 [4] Park J, Cha J D, Choi K M, et al. Fucoidan inhibits LPS-induced inflammation in vitro, and during the acute response in vivo [J]. Int Immunopharmacol, 2017, 43 (1) :91-98.
 [5] Negishi H, Mori M, Mori H, et al. Supplementation of elderly Japanese men and women with fucoidan from

seaweed increases immune responses to seasonal influenza vaccination [J]. J Nutr, 2013, 143 (11) : 1794-1798.
 [6] LU K Y, LI R, Hsu C H, et al. Development of a new type of multifunctional fucoidan-based nanoparticles for anticancer drug delivery [J]. Carbohydr Polym, 2017, 165(1) :410-420.
 [7] Isnansetyo A, Fikriyah A, Kasanah N, et al. Non-specific immune potentiating activity of fucoidan from a tropical brown algae (Phaeophyceae), *Sargassum cristaeifolium*, in tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquacult Int, 2016,24(2):1-13.
 [8] Vinoth K T, Lakshmanasenthil S, Geetharamani D, et al. Fucoidan-A α-D-glucosidase inhibitor from *Sargassum wightii* with relevance to type 2 diabetes mellitus therapy. [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 72 (2) : 1044-1047.
 [9] Kalimuthu S, Kim S K. Fucoidan, A sulfated polysaccharides from brown algae as therapeutic target for cancer[M]. Berlin:Handbook of Anticancer Drugs from Marine Origin. Springer International Publishing,2015: 145-164.
 [10] Fletcher H R, Biller P, Ross A B, et al. The seasonal variation of fucoidan within three species of brown macroalgae[J]. Algal Research, 2017,22(1):79-86.
 [11] Mak W, Hamid N, LIU T, et al. Fucoidan from new zealand *Undaria pinnatifida*: monthly variations and determination of antioxidant activities [J]. Carbohydr Polym,2013,95(1):606-614.
 [12] 王亚芳,张海霞,汪秋宽,等. 几种褐藻多糖硫酸酯粗提物的降血脂作用[J]. 食品科技,2015,40(2): 247-253.

- [13] 彭雍博,宋悦凡,武龙,等. 厚叶海带岩藻聚糖硫酸酯分离纯化及其体外肿瘤抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(17): 283-287.
- [14] Skriptsova A V, Shevchenko N M, Zvyagintseva T N, et al. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida*, (Laminariales, Phaeophyta) [J]. J Appl Phycol, 2010, 22(1): 79-86.
- [15] Somasundaram S N, Shanmugam S, Subramanian B, et al. Cytotoxic effect of fucoidan extracted from *Sargassum cinereum*, on colon cancer cell line HCT-15 [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 91(7): 1215-1223.
- [16] 袁松,李八方,王景峰,等. 相对低分子量海带岩藻聚糖硫酸酯对乙酸慢性胃溃疡的辅助治疗作用[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(4): 63-68.
- [17] Men'shova R V, Ermakova S P, Um B H, et al. The composition and structural characteristics of polysaccharides of the brown alga *Eisenia bicyclis* [J]. Russ J Ma Biol, 2013, 39(3): 208-213.
- [18] Tako M, Nakada T, Hongou F. Chemical characterization of fucoidan from *Commercially cultured* (Itomozuku) [J]. Biosci Biotech Biochem, 2014, 63(10): 1813-1815.
- [19] Bilan M I, Grachev A A, Shashkov A S, et al. Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus serratus* L. [J]. Carbohydr Res, 2002, 337(8): 719-730.
- [20] Skriptsova A V. Fucoidans of brown algae: biosynthesis, localization, and physiological role in thallus [J]. Russ J Mar Biol, 2015, 41(3): 145-156.
- [21] Oliveira C, Ferreira A S, Novoa-Carballal R, et al. The key role of sulfation and branching on fucoidan antitumor activity [J]. Macromol Biosci, 2016, 17(5): 1600340.
- [22] Anastuyuk S D, Shevchenko N M, Nazarenko E L, et al. Structural analysis of a fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens* by MALDI-TOF and tandem ESI mass spectrometry [J]. Carbohydr Res, 2009, 344(6): 779-787.
- [23] Saha S, Navid M H, Bandyopadhyay S S, et al. Sulfated polysaccharides from *Laminaria angustata*: structural features and *in vitro*, antiviral activities [J]. Carbohydr Poly, 2012, 87(1): 123-130.
- [24] Medeiros V P, Queiroz K C, Cardoso M L, et al. Sulfated galactofucan from *Lobophora variegata*: anticoagulant and anti-inflammatory properties [J]. Biochemistry, 2008, 73(9): 1018-24.
- [25] 宁亚净. 羊栖菜褐藻糖胶的结构分析[D]. 长春: 东北师范大学, 2014.
- [26] 钟思燕,王维民,谌素华,等. 不同分子量马尾藻岩藻聚糖硫酸酯的制备和化学组成分析[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(6): 70-75.
- [27] 刘舒. 三种褐藻中岩藻聚糖硫酸酯的纯化及结构分析[D]. 大连: 大连海洋大学, 2013.
- [28] 邓颖,岑建斌,区硕俊,等. 优化高效液相色谱法和气相色谱法测定食品中甜蜜素的对比研究[J]. 广东化工, 2016, 43(14): 235-236.
- [29] WANG J, JIN W, ZHANG W, et al. Hypoglycemic property of acidic polysaccharide extracted from *Saccharina japonica*, and its potential mechanism [J]. Carbohydr Poly, 2013, 95(1): 143-147.
- [30] 张海霞,汪秋宽,何云海,等. 马尾藻褐藻多糖硫酸酯的分离纯化及结构研究[J]. 大连海洋大学学报, 2016, 31(5): 559-562.
- [31] Marudhupandi T, Ajith Kumar T T, Lakshmanasenthil S, et al. *In vitro* anticancer activity of fucoidan from *Turbinaria conoides* against A549 cell lines [J]. Int J Biol Macromol, 2015, 72(72): 919-923.
- [32] Synytsya A, Kim W J, Kim S M, et al. Structure and antitumor activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida* [J]. Carbohydr Poly, 2010, 81(1): 41-48.
- [33] Bilan M I, Grachev A A, Shashkov A S, et al. Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus serratus* L. [J]. Carbohydr Res, 2002, 337(8): 719-730.
- [34] 郭峰君,胡靖,赵雪. 海带岩藻聚糖硫酸酯降解及基本结构分析[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 93-97.
- [35] Marudhupandi T, Thipramalai T. Effect of fucoidan from *Turbinaria ornata* against marine ornamental fish pathogens [J]. J Coastal Life Med, 2013, 1(4): 282-286.
- [36] Synytsya A, Kim W J, Kim S M, et al. Structure and antitumor activity of fucoidan isolated from sporophyll of Korean brown seaweed *Undaria pinnatifida* [J]. Carbohydr Poly, 2010, 81(1): 41-48.
- [37] WANG Q K, SONG Y F, HE Y H, et al. Structural characterisation of algae *Costaria costata* fucoidan and its effects on CCl₄-induced liver injury [J]. Carbohydr Poly, 2014, 107(1): 247-254.
- [38] Eluvakkal T, Shanthi N, Murugan M, et al. Extraction of antibacterial substances, galactofucoidan and alginate successively from the gulf of mannar brown seaweed *Sargassum wightii* Greville ex J. Agardh [J]. Indian J Nat Prod Res, 2014, 5(3): 249-257.
- [39] Bilan M I, Grachev A A, Ustuzhanina N E, et al. A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus distichus* L [J]. Carbohydr Res, 2004, 339(3): 511-517.

- [40] Lim S J J L, WAN A W, Maskat M Y, et al. Characterisation of fucoidan extracted from Malaysian *Sargassum binderi* [J]. Food Chem, 2016, 209 (8): 267-273.
- [41] 李波,陈海华,许时婴. 二维核磁共振谱在多糖结构研究中的应用[J]. 天然产物研究与开发, 2005, 17 (4): 523-526.
- [42] Bilan M I, Vinogradova E V, Tsvetkova E A, et al. A sulfated glucuronofucan containing both fucufuranose and fucopyranose residues from the brown alga *Chordaria flagelliformis* [J]. Carbohydr Res, 2008, 343 (15): 2605-2612.
- [43] Shiroma R, Konishi T, Uechi S, et al. Structural study of fucoidan from the brown seaweed *Hizikia fusiformis* [J]. Food Sci Technol Res, 2008, 14(2): 176-182.
- [44] 沈淑洁,水素芳,肖炳坤,等. 基于 1H-NMR 及 LC-MS 技术研究金铃子散对炎症大鼠模型调节机制的影响[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(2): 363-369.
- [45] YU L, XU X, XUE C, et al. Enzymatic preparation and structural determination of oligosaccharides derived from sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan [J]. Food Chem, 2013, 139(1-4): 702-709.
- [46] WANG P, ZHAO X, LYU Y, et al. Analysis of structural heterogeneity of fucoidan from *Hizikia fusiforme* by ES-CID-MS/MS [J]. Carbohydr Poly, 2012, 90 (1): 602-607.
- [47] Yuguchi Y, Tran V T, Bui L M, et al. Primary structure, conformation in aqueous solution, and intestinal immunomodulating activity of fucoidan from two brown seaweed species *Sargassum crassifolium* and *Padina australis* [J]. Carbohydr Poly, 2016, 147(8): 69-78.
- [48] Anastyuk S D, Shevchenko N M, Gorbach V I. Fucoidan analysis by tandem MALDI-TOF and ESI mass spectrometry [J]. Methods Mol Biol, 2015, 1308 (6): 299-312.
- [49] Anastyuk S D, Shevchenko N M, Dmitrenok P S, et al. Structural similarities of fucoidans from brown algae *Silvetia babingtonii* and *Fucus evanescens*, determined by tandem MALDI-TOF mass spectrometry [J]. Carbohydr Res, 2012, 358(9): 78-81.
- [50] Anastyuk S D, Imbs T I, Dmitrenok P S, et al. Rapid mass spectrometric analysis of a novel fucoidan, extracted from the brown alga *Coccolophora langsdorfii* [J]. Sci World J, 2014, 972450(3): 1-9.
- [51] WANG J, LIU L, ZHANG Q B, et al. Synthesized oversulphated, acetylated and benzoyleated derivatives of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity *in vitro* [J]. Food Chem, 2009, 114(4): 1285-1290.
- [52] Lira M C, Santosmagalhães N S, Nicolas V, et al. Cytotoxicity and cellular uptake of newly synthesized fucoidan-coated nanoparticles [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 79(1): 1959-1963.
- [53] 蔡璐. 不同分子量马尾藻岩藻聚糖硫酸酯的制备及降血脂机理的初步研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2014.
- [54] 王莹, 赵志浩, 高蒙初, 等. 岩藻聚糖硫酸酯及其酶解产物对 D-半乳糖氧化损伤小鼠的抗氧化作用 [J]. 现代食品科技, 2013, 29(10): 2378-2382.
- [55] Lim S, Choi J I, Park H. Antioxidant activities of fucoidan degraded by gamma irradiation and acidic hydrolysis [J]. Radiat Phys Chem, 2015, 109 (12): 23-26.
- [56] Ajisaka K, Yokoyama T, Matsuo K. Structural characteristics and antioxidant activities of fucoidans from five brown seaweeds [J]. J Appl Glycosci, 2016, 63(24): 31-37.
- [57] 蔡璐, 王维民, 谌素华, 等. 不同组分马尾藻岩藻聚糖硫酸酯对人肺癌细胞 A549 作用的研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(1): 116-119.
- [58] Cho M L, Lee B Y, You S G. Relationship between oversulfation and conformation of low and high molecular weight fucoidans and evaluation of their *in vitro* anticancer activity [J]. Molecules, 2010, 16 (1): 291-297.
- [59] Vishchuk O S, Ermakova S P, Zvyagintseva T N. The fucoidans from brown algae of far-eastern seas: anti-tumor activity and structure-function relationship [J]. Food Chem, 2013, 141(2): 1211-1217.
- [60] Shevchenko N M, Anastyuk S D, Menshova R V, et al. Further studies on structure of fucoidan from brown alga *Saccharina gurjanovae* [J]. Carbohydr Poly, 2015, 121 (12): 207-216.
- [61] Anastyuk S D, Shevchenko N M, Ermakova S P, et al. Anticancer activity *in vitro*, of a fucoidan from the brown alga *Fucus evanescens*, and its low-molecular fragments, structurally characterized by tandem mass-spectrometry [J]. Carbohydr Poly, 2012, 87(1): 186-194.
- [62] Cumashi A, Ushakova N A, Preobrazhenskaya M E, et al. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds [J]. Glycobiology, 2007, 17(5): 541-552.
- [63] Lee S H, Ko C I, Ahn G, et al. Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava* [J]. Carbohydr Poly, 2012, 89(2):

- 599-606.
- [64] Rabanal M, Ponce N M, Navarro D A, et al. The system of fucoidans from the brown seaweed *Dictyota dichotoma*: Chemical analysis and antiviral activity[J]. Carbohydr Poly, 2014, 101(1):804-811.
- [65] Lee J B, Takeshita A, Hayashi K, et al. Structures and antiviral activities of polysaccharides from *Sargassum trichophyllum* [J]. Carbohydr Poly, 2011, 86(2):995-999.
- [66] Nishino T, Aizu Y, Nagumo T. The relationship between the molecular weight and the anticoagulant activity of two types of fucan sulfates from the brown seaweed *Ecklonia kurome*[J]. Agr Biol Chem, 1991, 55(3):791-796.
- [67] Chandía N P, Matsuhiro B. Characterization of a fucoidan from *Lessonia vadosa* (Phaeophyta) and its anticoagulant and elicitor properties [J]. Int J Biol Macromol, 2008, 42(3):235-240.
- [68] 陈安进, 赵雪, 张芳. 不同相对分子质量岩藻聚糖硫酸酯抗血栓活性比较及机制探讨[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(6):431-434.
- [69] KANG H K, CHANG H S, Park Y. The effects of marine carbohydrates and glycosylated compounds on human health[J]. Int J Mole Sc, 2015, 16(3):6018-6056.
- [70] 赵雪, 傅海舰, 薛长湖, 等. 自由基氧化法制备海带岩藻聚糖硫酸酯的抗凝血活性[J]. 中国水产科学, 2007, 14(6):1017-1022.
- [71] Silva T M, Alves L G, de Queiroz K C, et al. Partial characterization and anticoagulant activity of a heterofucan from the brown seaweed *Padina gymnospora* [J]. Braz J Med Biol Res, 2005, 38(4):523-533.
- [72] JIN W H, ZHANG Q, WANG J, et al. A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans [J]. Carbohydr Poly, 2013, 91(1):1-6.
- [73] ZHANG Z, Till S, Knappe S, et al. Screening of complex fucoidans from four brown algae species as procoagulant agents[J]. Carbohydr Poly, 2015, 115(1):677-685.
- [74] 谌素华, 王维民, 蔡璐, 等. 围氏马尾藻岩藻聚糖硫酸酯对高脂血症小鼠脂质代谢的调节作用[J]. 食品科学, 2015, 36(19):244-249.
- [75] 李小蓉, 张拴. 海带中岩藻多糖的抗衰老活性及构效关系研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15):117-121.
- [76] 袁松. 不同分子量海带岩藻聚糖硫酸酯对大鼠抗胃溃疡作用的研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2014.
- [77] 陈焕君. 两种岩藻聚糖硫酸酯 FP08S2 和 NDH01 抗血管生成的作用机制研究[D]. 上海:中国科学院上海药物研究所, 2016.
- [78] Clément M J, Tissot B, Chevotot L, et al. NMR characterization and molecular modeling of fucoidan showing the importance of oligosaccharide branching in its anticomplementary activity [J]. Glycobiology, 2010, 20(7):883-894.

[责任编辑 顾雪竹]