

岩藻聚糖硫酸酯的硫酸化修饰对其生物活性的影响

刘岩¹, 贾哲宇¹, 郑扬¹, 王慧蕊¹, 任丹丹^{1,2,3,4*}, 何云海^{1,2,3,4}, 汪秋宽^{1,2,3,4}

(1. 大连海洋大学食品科学与工程学院, 大连 116023; 2. 辽宁省水产品加工及综合利用重点实验室, 大连 116023; 3. 国家海藻加工技术研发分中心, 大连 116023; 4. 大连工业大学海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 大连 116023)

摘要: 岩藻聚糖硫酸酯是一种硫酸化多糖, 多来自于褐藻和棘皮动物, 因具有多种生物活性而得到广泛研究。有研究表明岩藻聚糖硫酸酯的生物活性与其硫酸基团有关, 因此对岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰将有利于提高其生物活性。本文简述了硫酸基团对岩藻聚糖硫酸酯生物活性的影响; 介绍了岩藻聚糖硫酸酯的硫酸化方法, 其中包括三氧化硫-吡啶法、氯磺酸-吡啶法、三氧化硫-N,N-二甲基甲酰胺法以及浓硫酸法; 最后阐述了硫酸化修饰后的岩藻聚糖硫酸酯抗凝血、抗肿瘤、抗氧化以及抗病毒等生物活性的变化, 以期对岩藻聚糖硫酸酯硫酸化修饰的应用与发展提供理论参考。

关键词: 岩藻聚糖硫酸酯; 硫酸基团; 硫酸化修饰; 抗凝活性; 抗肿瘤活性; 抗氧化活性

Effects of sulfated modification of fucoidan on its biological activity

LIU Yan¹, JIA Zhe-Yu¹, ZHENG Yang¹, WANG Hui-Rui¹, REN Dan-Dan^{1,2,3,4*},
HE Yun-Hai^{1,2,3,4}, WANG Qiu-Kuan^{1,2,3,4}

(1. College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Utilization of Liaoning Province, Dalian 116023, China; 3. Nation Research and Development Branch Center for Seaweed Processing, Dalian 116023, China; 4. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116023, China)

ABSTRACT: Fucoidan, a kind of sulfated polysaccharide, is mostly from brown algae and echinoderms, which has been widely studied because of its various biological activities. Studies have shown that the biological activity of fucoidan is positively correlated with the content and position of sulfate groups. Therefore, over sulfated fucoidan will improve its biological activity. This paper briefly described the effects of sulfate group on biological activity of fucoidan and introduced the sulfidation methods of fucoidan sulfate, including sulfur trioxide-pyridine method, chlorsulfonic acid-pyridine method, sulfur trioxide-N,N-dimethyl formamide method and concentrated sulfuric acid method. Finally, the changes of bioactivities such as anticoagulant activity, antitumor activity, antioxidant activity and antiviral activity of fucoidan modified by acidification were described, in order to provide theoretical reference for the application and development of fucoidan modified by acidification.

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究项目(JL201909)、财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-50)

Fund: Supported by the Scientific Research Project of Education Department of Liaoning Province (JL201909), and the Ministry of Finance and Ministry of Agriculture and Rural Affairs: National Modern Agricultural Industrial Technology System Funding (CARS-50)

*通信作者: 任丹丹, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋生物资源利用。E-mail: rdd80@163.com

*Corresponding author: REN Dan-Dan, Ph.D, Professor, College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China. E-mail: rdd80@163.com

KEY WORDS: fucoidan; sulfate groups; sulfated modification; anticoagulant activity; antitumor activity; antioxidant activity

0 引言

岩藻聚糖硫酸酯是一种由硫酸化岩藻糖残基组成的多糖,多存在于不同种类的褐藻和棘皮动物中,如墨角藻、海带、海参和海胆,因褐藻具有价格低廉且易获得的优点,因此对岩藻聚糖硫酸酯进行学术研究时多提取于褐藻^[1-2]。岩藻聚糖硫酸酯主要由L-岩藻糖、硫酸基团、一定比例的木糖、甘露糖、半乳糖、鼠李糖、阿拉伯糖和葡萄糖等单糖以及各种乙酰基组成,有时在支链上还会有 β -D-半乳糖,但单糖在岩藻聚糖硫酸酯中的具体位置尚不清楚^[3-5]。研究发现,不同来源的岩藻聚糖硫酸酯主链糖苷键连接方式、单糖组成及硫酸基团的硫酸化程度差异较大,棘皮动物来源的岩藻聚糖硫酸酯的主链多为 α -1,3连接,硫酸基团取代在C-2和/或C-4位^[6],而大部分藻类中的岩藻聚糖硫酸酯的主链是由交替的 α -1,3和 α -1,4连接,硫酸基团多取代在C-2和/或C-4位,有时取代在C-3位^[7-8]。

研究表明,岩藻聚糖硫酸酯作为一种天然多糖具有多种生物活性,如抗炎、抗肿瘤、抗凝血、抗病毒、抗氧化等^[9],又因其对人体毒副作用低而受到学术界的广泛关注^[10]。有研究发现,影响多糖活性的主要因素有分子量、硫酸基团及分子结构等,其中硫酸基团的含量和取代位置对岩藻聚糖硫酸酯的生物活性发挥重要作用^[11-12]。因此有学者利用不同的方法对岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰,由硫酸基团取代羟基,通过构象的改变影响其生物活性^[13-14]。本文综述了硫酸基团对岩藻聚糖硫酸酯活性的影响、硫酸化方式及其硫酸化产物的生物活性变化,以期对岩藻聚糖硫酸酯硫酸化修饰的相关研究提供参考。

1 硫酸基团对岩藻聚糖硫酸酯活性的影响

研究发现,岩藻聚糖硫酸酯的抗凝血、抗肿瘤、抗氧化等活性与其结构中的硫酸基团含量密切相关。ZHANG等^[15]对墨角藻(*Fucus vesiculosus*)中提取的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰和脱硫处理,得到两者的硫酸化程度分别为1.34和0.50。当样品浓度相同时,与天然岩藻聚糖硫酸酯相比,硫酸化修饰后可明显增加其活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT),说明硫酸基团含量的增加可增强岩藻聚糖硫酸酯的抗凝血活性,但脱硫处理的岩藻聚糖硫酸酯没有表现出抗凝血活性。因此,找到硫酸基团含量对岩藻聚糖硫酸酯生物活性影响的临界值对今后的研究具有重大意义。BOUHEDJA等^[16]发现来自泡叶藻(*Ascophyllum nodosum*)中的低分子量岩藻聚

糖硫酸酯具有一定的抗凝血和抗增殖活性,研究结果表明当硫酸基团含量低于20%时,其抗凝活性消失;低于10%时无法表现出抗增殖活性,而当硫酸基团高于10%时,其抗增殖活性会随硫酸化程度的增大而增强。有学者对其作用机制进行研究,结果发现岩藻聚糖硫酸酯能够使肺癌细胞A-549的细胞周期处于亚G1期(代表细胞凋亡)的数量增加,且硫酸基团含量越高,处于亚G1期的细胞数越多^[17]。USOLTSEVA等^[18]对来自*Saccharina dentigera*中的岩藻聚糖硫酸酯进行脱硫处理,硫酸基团含量由原来的40%降低至3%,此时岩藻聚糖硫酸酯对小肠腺癌HuTu80细胞系的抑制率比脱硫处理前降低了30%。以上实验结果进一步证明了硫酸基团对岩藻聚糖硫酸酯抗增殖活性具有重要的意义。除此之外,WANG等^[19]对海带(*Laminaria japonica*)中的岩藻聚糖硫酸酯进行纯化后分析其抗氧化活性,结果显示硫酸基团含量最高的组分对1,1-二苯基-2-三硝基苯基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH·)的清除能力最强,其原因可能是硫酸基团的存在可以激活异头碳的氢原子,与DPPH·形成稳定的DPPH-H分子。由此说明,硫酸基团的含量影响了岩藻聚糖硫酸酯的多种生物活性。

有研究发现,能够对岩藻聚糖硫酸酯的生物活性产生影响的不只是硫酸基团含量,还有其硫酸化模式^[20]。OLIVEIRA等^[21]研究了墨角藻中的岩藻聚糖硫酸酯的抗肿瘤活性,结果显示纯化后的3个组分FE1、FE2、FE3的硫酸基团分别取代在C-3和C-4位、C-3位、C-2和C-4位,其中FE2和FE3可诱导肿瘤细胞死亡,而FE1的活性较低。由于3个组分的硫酸基团含量差异不大,均处于28%~29.3%之间,所以猜测导致其活性差异的是硫酸基团的取代位置。除此之外,KASAI等^[11]系统合成了具有不同硫酸化模式的岩藻聚糖硫酸酯衍生物(2,4-O-硫酸化,4-O-硫酸化,2-O-硫酸化,2,3,4-O-硫酸化,2,3-O-硫酸化,3,4-O-硫酸化),结果表明2,4-O-硫酸化和3,4-O-硫酸化的岩藻聚糖硫酸酯对人乳腺癌细胞MCF-7和人宫颈上皮样癌细胞HeLa抑制率较高,但2,4-O-硫酸化模式的岩藻聚糖硫酸酯对人体正常细胞WI-38有毒性,而3,4-O-硫酸化模式对人体正常细胞没有毒性,进一步说明了硫酸基团取代位置影响其抗肿瘤活性。有学者认为如果岩藻聚糖硫酸酯聚合物呈紧密的球形构象,那么可用于结合细胞表面蛋白质的阴离子硫酸基团可能隐藏在链内,从而导致癌细胞抑制能力降低,而如果岩藻聚糖硫酸酯聚合物处于松散和缠结的构象,链中存在的大多数硫酸基团可与蛋白质结合,则能够有效地增强其抑制癌细胞生长的能力^[22]。

因此,有效增加岩藻聚糖硫酸酯结构中的硫酸基团

的含量, 改变取代基所在位置将有助于提高岩藻聚糖硫酸酯的生物活性, 更大程度发挥其功能作用。

2 硫酸化修饰的方法

通过硫酸化在岩藻糖基中引入硫酸基团, 从而改变硫酸基团的取代位置并增加其含量。目前常用的硫酸化方式主要包括三氧化硫-吡啶法、氯磺酸-吡啶法、三氧化硫-N,N-二甲基甲酰胺法和浓硫酸法^[23]。

2.1 三氧化硫-吡啶法

三氧化硫-吡啶法是以三氧化硫作为引入硫酸基团的来源, 以吡啶为催化剂对岩藻聚糖硫酸酯进行化学修饰。BOUHEDJA 等^[16]采用三氧化硫-吡啶法对来源于泡叶藻的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰, 结果发现硫酸基团取代在 C-2 和 C-3 位, 硫酸基团含量由原来的 27% 增加到 41.8%。孙文俊^[24]采用三氧化硫-吡啶法对海地瓜(*Acaudina leucoprocta*)中的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化时, 当反应时间为 1 h, 三氧化硫和吡啶配比为 1:6 时, 硫酸基团含量可达到 28.03%, 相对于硫酸化之前增加了 17%。LIU 等^[25]对来源于海带(*Saccharina japonica*)中的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰, 得到的硫酸基团的含量由 25.17% 提高到 40.84%。

2.2 氯磺酸-吡啶法

氯磺酸-吡啶法硫酸化修饰岩藻聚糖硫酸酯的原理是在吡啶的催化下, 岩藻聚糖硫酸酯与氯磺酸进行反应, 硫酸基团取代岩藻糖基中的羟基, 从而使硫酸基团含量增加^[26]。PIELESZ 等^[27]对墨角藻中的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰后, 硫酸基团的位置由原来的 C-4 位变为 C-4 和 C-6 位。王瑞芳等^[28]研究了氯磺酸-吡啶法对海地瓜中的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰时, 当酯化过程处于最佳工艺条件时, 硫酸基团含量由原来的 10.75% 增加到 59.3%。

2.3 三氧化硫-N,N-二甲基甲酰胺法

由于吡啶具有难闻的气味, 而且本身带有毒性, 所以并不适合用于食品的检测。CHEN 等^[29]用 N,N-二甲基甲酰胺作为催化剂对马尾藻(*Sargassum aquifolium*)中提取的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰, 当试剂与样品比值分别为 0、100、150、200 mL/L 时, 所得衍生物的硫酸基团含量分别为 18.7%、24.7%、28.6%、32.1%。CHO 等^[30]对裙带菜(*Undaria pinnatifida*)中的岩藻聚糖硫酸酯进行纯化后得到分子量分布为 5~30 kDa 和 >30 kDa 的两种组分, 并分别进行硫酸化修饰, 结果显示两个组分中的硫酸基团含量分别增加了 21.3% 和 9.5%。TERUYA 等^[31]用此方法制备来自冈村枝管藻(*Cladosiphon okamuranus*)的硫酸化岩藻聚糖硫酸酯, 得到的衍生物中硫酸基团含量为 32.8%, 相比天然多糖增加了 19.3%。HSIAO 等^[17]发现来自马尾藻中的岩藻

聚糖硫酸酯硫酸基团含量为 13.67%, 经硫酸化后, 其硫酸基团含量可高达 60.63%。YU 等^[32]再墨角藻中提取的岩藻聚糖硫酸酯经硫酸化后硫酸基团含量提高至 41.7%。

2.4 浓硫酸法

浓硫酸法是将岩藻聚糖硫酸酯溶于浓硫酸中进行酯化反应, 反应过程中岩藻糖基上的羟基被来自浓硫酸中的硫酸基团取代^[33]。孙文俊^[24]利用浓硫酸法对岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰, 当反应条件达到最佳时, 硫酸基团含量由原来的 7% 增加到 22.50%, 且红外光谱结果显示酯化后的岩藻聚糖硫酸酯 S=O 吸收峰和 C-O-S 吸收峰均有所增强, 说明硫酸基团含量增加。

以上实验结果发现, 经硫酸化修饰后大部分硫酸基团位置均由 C-4 位变为 C-2 和 C-4 位。

对岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰时, 主要通过控制反应条件, 利用最适酯化试剂及催化剂, 使硫酸基团达到最佳取代效果^[34]。以上 4 种方法各具特点, 如三氧化硫-吡啶法的酯化剂相对稳定, 且与高极性溶剂的相容性较好, 有助于多糖的溶解, 但成本较高且有毒性; 氯磺酸-吡啶法取代效果佳, 反应较彻底, 但操作复杂, 副反应多且有毒性; 浓硫酸法虽无毒性, 但取代效果较差且易降解。现今采用最多的硫酸化方法是三氧化硫-N,N-二甲基甲酰胺法, 其原因是相对于吡啶作为催化剂, 三氧化硫-N,N-二甲基甲酰胺安全无毒, 且取代效率佳。

3 硫酸化修饰对岩藻聚糖硫酸酯生物活性的影响

3.1 抗凝血活性

岩藻聚糖硫酸酯的结构特征对其抗凝血活性具有重要的影响, 其中包括硫酸基团水平和糖骨架上硫酸基团的位置^[35]。以硫酸化程度(degree of sulfation, DS)来表示每糖单位的硫酸基团数量, 当对岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰后发现, 随着 DS 的增加, 其对凝血酶的抑制率及对纤溶酶原的激活也随之增加^[36], 原因可能是硫酸基团负电荷的分布可以识别生物靶标, 如凝血蛋白(AT 和 HC-II), 其中负电荷主要来自于附着的硫酸基团^[16], 而当 DS<0.6 时, 则没有表现出抗凝血活性^[15]。研究发现谷氨酰胺纤溶酶原(Glu-Plg)能够抑制凝血因子的活性, 降低凝血速率, 组织纤溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, t-PA)能够增强 Glu-Plg 的体外激活^[37]。CARRANZA 等^[38]将岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰, 结果发现 t-PA 体外激活 Glu-Plg 的速率增加了 4 倍。除此之外, 有研究表明, 来源于裙带菜中的岩藻聚糖硫酸酯具有抗凝血活性, 其 APTT 和凝血酶时间(thrombin time, TT)随硫酸基团含量的增加而增加, 且当硫酸基团含量为 24% 时达到最大值^[39]。为了探究岩藻聚糖硫酸酯抗凝血活性是否与硫酸基团的取代位置有关,

USTYUZHANINA 等^[40]对墨角藻和冈村枝管藻的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰,结果发现经硫酸化后硫酸基团位置由 C-2 位变为 C-2 和 C-4 位,同时抗凝血活性提高,其原因是 2,4-O-硫酸化模式的岩藻聚糖硫酸酯能更有效地结合抗凝血酶 III,并抑制凝血酶活性,从而有效抑制凝血的形成。

3.2 抗肿瘤活性

岩藻聚糖硫酸酯具有抗癌细胞增殖活性,其机制是抑制癌细胞对各种基质的粘附或抑制癌细胞进入对数期,从而可以抑制肿瘤细胞系的生长^[41]。经硫酸化后的岩藻多糖主要含有岩藻糖基和大量硫酸基团,比低硫酸化程度的天然岩藻聚糖硫酸酯具有更高的抗肿瘤活性。CHO 等^[30]将来源于裙带菜中的岩藻聚糖硫酸酯进行纯化后得到分子量不同的两个组分,再进行硫酸化修饰,结果发现硫酸基团含量分别增加了 21.3%和 9.5%,且当样品质量浓度为 0.8 mg/mL 时,两者对癌细胞系 AGS 的抑制率分别提高了 30.7%和 15.2%。说明硫酸基团含量与岩藻聚糖硫酸酯的抗癌活性息息相关。除此之外,有学者发现硫酸基团所在的位置也同样影响其活性。TERUYA 等^[31]发现冈村枝管藻中提取的岩藻聚糖硫酸酯经硫酸化后其硫酸基团含量提高了 20%,取代位置由 C-4 位变成 C-2 和 C-4 位,同时使淋巴瘤细胞 U937 的细胞活性由 90%降为 10%,而且诱导肺癌细胞系 A-549 细胞 DNA 断裂的能力加强^[17]。SILCHENKO 等^[42]从枯墨角藻(*Fucus evanescens*)中提取的岩藻聚糖硫酸酯对人结肠癌细胞 DLD-1 和人乳腺癌细胞 MCF-7 的细胞集落抑制率分别为 77%和 58%,利用硫酸酯酶 SWF5 去除其 C-4 位的硫酸基团后发现,4-O 脱硫衍生物与天然岩藻聚糖硫酸酯相比效果较小,对 DLD-1 细胞和 MCF-7 细胞集落数分别减少了 60%和 45%,由此推测 4-O 硫酸化模式对岩藻聚糖硫酸酯的抗癌活性有重要作用。

血管生成是微血管新生的基本过程,在癌症的发病机制中存在不受控制的持续血管生成。因此,抑制病理性新血管形成可能是肿瘤疾病的新治疗方法,而内皮细胞的迁移是血管生成过程中的一个重要过程。SOEDA 等^[43]分别研究了天然岩藻聚糖硫酸酯、脱硫处理的岩藻聚糖硫酸酯以及硫酸化岩藻聚糖硫酸酯对人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)迁移的影响。结果发现,加入 100 μg/mL 的天然岩藻聚糖硫酸酯对细胞迁移抑制率为 49%,而经硫酸化的岩藻聚糖硫酸酯仅需 10 μg/mL 抑制率便可达到 68%。同样在 YU 等^[32]的实验中发现,硫酸化后的岩藻聚糖硫酸酯硫酸基团含量增加,且取代位置由 C-4 位变成 C-2 和 C-4 位,此时对 HUVEC 的迁移抑制率提高了 21.6%。其机制可能是岩藻聚糖硫酸酯通过抑制血管内皮细胞生长因子 165 (VEGF₁₆₅)与细胞表面受体的结合,从而抑制下游信号转导,降低 HUVEC 的迁移率^[44]。

3.3 抗氧化活性

由于过度产生活性氧会导致脂质、DNA 和蛋白质等生物大分子的氧化损伤,因此氧化应激与许多人类疾病的发病机制有关,如酒精性肝病、衰老和糖尿病^[45]。有研究表明,人体内的过氧化氢在亚铁离子或铜离子等金属离子的介导下可分解为自由基,侵害细胞中的不饱和脂肪酸,从而引起脂质过氧化反应,岩藻聚糖硫酸酯可以螯合金属离子,且螯合能力随硫酸基团与岩藻糖含量的比率呈正相关^[46]。因此,CHEN 等^[29]对马尾藻中的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化修饰,当硫酸基团含量由 18.7%增加到 32.1%,此时 DPPH· 的半最大效应浓度(concentration for 50% of maximal effect, EC50)从 1.82 mg/mL 降低到 0.86 mg/mL,表明岩藻聚糖硫酸酯的抗氧化活性与硫酸基团含量呈正相关。此外,孙文俊^[24]发现,当采用不同的方法对海参中的岩藻聚糖硫酸酯进行硫酸化时,岩藻聚糖硫酸酯对·OH、DPPH· 和·O²⁻的清除能力不同,但随着酯化后硫酸基团含量的增加,岩藻聚糖硫酸酯对自由基的清除率均表现出增加的趋势。有学者探究了岩藻聚糖硫酸酯对活性氧的清除机制,结果发现硫酸基团是聚电解质基团,可以激活异聚碳的氢原子,对其进行硫酸化修饰后,显著降低了活性氧的浓度,增强了抗氧化能力^[25]。

3.4 其他生物活性

硫酸乙酰肝素是许多病毒的受体分子,SONG 等^[47]研究发现,硫酸化多糖与其有相似结构,在病毒进入人体后,岩藻聚糖硫酸酯作为硫酸乙酰肝素的模拟物,代替硫酸乙酰肝素成为病毒附着的目标,从而防止病毒颗粒粘附到细胞上。且经过硫酸化后的岩藻聚糖硫酸酯,随着硫酸基团含量的增加对单纯疱疹病毒表现出更高的抑制率^[48]。有研究表明,硫酸基团在岩藻糖基上的位置同样影响其抗病毒活性^[49]。FAN 等^[20]合成了具有多种硫酸化模式的岩藻聚糖硫酸酯衍生物,结果显示 2-O-硫酸化模式的岩藻聚糖硫酸酯对甲型 H1N1 病毒表现出相对较高的抑制活性,而 3-O-硫酸化模式对甲型 H3N2 流感病毒的抑制更有效。除此之外,岩藻聚糖硫酸酯可以通过与严重急性呼吸综合征相关冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)蛋白结合,从而有效抑制病毒感染^[50]。研究发现,不同来源的岩藻聚糖硫酸酯对 SARS-CoV-2 的抑制率不同,其中来自海胆中的具有 2,3-O-硫酸化模式岩藻聚糖硫酸酯具有较高的抗 SARS-CoV-2 病毒活性^[51]。

α-淀粉酶和 α-D-葡萄糖苷酶活性与血糖水平的升高有关,因此,对这两种酶的控制对于 II 型糖尿病治疗中非常重要。CHO 等^[52]从裙带菜中提取的岩藻聚糖硫酸酯硫酸基团含量为 41.5%,进行硫酸化修饰后的硫酸基团含量增加至 51.1%,同时对 α-D-葡萄糖苷酶活性的抑制率提高了 19.2%。由此可见,硫酸化修饰能显著提升岩藻聚糖硫酸酯

对 α -D-葡萄糖苷酶的抑制活性。并且有学者发现, 当硫酸基团位于 C-3 位时, 岩藻聚糖硫酸酯对 α -淀粉酶活性的抑制更加明显^[53]。其机制可能是岩藻聚糖硫酸酯通过其硫酸基团和羟基与 α -淀粉酶之间的静电相互作用形成复合物, 从而抑制酶的活性^[54]。除此之外, 胰岛素抵抗也是 II 型糖尿病的病因之一, 有研究表明, 相比于 2-O-硫酸化模式, 具有 4-O-硫酸化模式的岩藻聚糖硫酸酯对缓解胰岛素抵抗的作用更大^[55]。

4 结束语

近年来, 岩藻聚糖硫酸酯一直作为活性突出的海洋多糖备受人们的广泛关注。众多研究者在天然岩藻聚糖硫酸酯的提取分离、纯化、结构解析及生物活性等领域投入了大量研究, 结果证实了岩藻聚糖硫酸酯不同于陆生生物来源多糖的特性与功能作用。但对硫酸化修饰后岩藻聚糖硫酸酯的结构变化及其作用机制的报道较少, 因此在今后的研究中仍需进一步对相关内容进行探索, 使岩藻聚糖硫酸酯的生物活性得到最佳的利用。

硫酸基团的含量及位置信息对岩藻聚糖硫酸酯活性的发挥具有重要影响, 除此之外, 硫酸基团与岩藻糖的结合率也是考虑多糖生物活性的重要部分。因此, 在开发天然岩藻聚糖硫酸酯的同时, 适时开展岩藻聚糖硫酸酯衍生物的研究与开发将有助于促进岩藻多糖产业的发展。后期对岩藻聚糖硫酸酯衍生物的研究开发应聚焦在硫酸基团的有效引入、硫酸基团与岩藻糖的结合及取代位点等方面。

由于低分子量的岩藻聚糖硫酸酯更有利于人体吸收, 近年来低分子量岩藻聚糖硫酸酯的制备逐渐成为研究热点, 但在降解过程中容易出现岩藻聚糖硫酸酯中硫酸基团的破坏与丢失等问题, 导致其生物活性的降低。目前, 对于低分子量岩藻聚糖硫酸酯的硫酸化修饰还缺乏深入的研究, 今后应加强对低分子量岩藻聚糖硫酸酯的硫酸化修饰研究, 从而得到既有利于人体吸收又具有较高生物活性的产品, 以推动岩藻聚糖硫酸酯的应用。

参考文献

- [1] AN Z, ZHANG ZH, ZHANG XM, *et al.* Oligosaccharide mapping analysis by HILIC-ESI-HCD-MS/MS for structural elucidation of fucoidan from sea cucumber *Holothuria floridana* [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 275: 118694.
- [2] CAXIANO IN, MELLO PA, ALIJO PHR, *et al.* Continuous design and economic analysis of a *Sargassum muticum* biorefinery process [J]. *Bioresour Technol*, 2022, 343: 126152.
- [3] LIU X, LIU X, KUSAYKIN MI, *et al.* Structural characterization of a p-selectin and EGFR dual-targeting fucoidan from *Sargassum fusiforme* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 199: 86–95.
- [4] 安子哲, 张朝辉, 刘梦阳, 等. 褐藻来源硫酸岩藻聚糖的化学组成与结构的研究进展[J]. *中国海洋药物*, 2021, 40(4): 50–63.
- [5] AN ZZ, ZHANG ZH, LIU MY, *et al.* Research advances in chemical composition and structure of fucoidan from brown algae [J]. *Chin J Mar Drugs*, 2021, 40(4): 50–63.
- [6] WANG Y, XING MC, CAO Q, *et al.* Biological activities of fucoidan and the factors mediating its therapeutic effects: A review of recent studies [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(3): 183.
- [7] ZHENG W, ZHOU L, LIN L, *et al.* Physicochemical characteristics and anticoagulant activities of the polysaccharides from sea cucumber *Pattalus mollis* [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(4): 198.
- [8] NI L, WANG L, FU X, *et al.* *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory activities of a fucose-rich fucoidan isolated from *Saccharina japonica* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 156: 717–729.
- [9] ZOU P, YANG X, YUAN Y, *et al.* Purification and characterization of a fucoidan from the brown algae *Macrocystis pyrifera* and the activity of enhancing salt-stress tolerance of wheat seedlings [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 180: 547–558.
- [10] SANJEEWA KKA, IEON YJ. Fucoidans as scientifically and commercially important algal polysaccharides [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(6): 284.
- [11] CHAUVIERRE C, LAUNAIA RA, AERTS J. Pharmaceutical development and safety evaluation of a GMP-grade fucoidan for molecular diagnosis of cardiovascular diseases [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(12): 699.
- [12] KASAI A, ARAFUKA S, KOSHIBA N, *et al.* Systematic synthesis of low-molecular weight fucoidan derivatives and their effect on cancer cells [J]. *Org Biomol Chem*, 2015, 13: 10556–10568.
- [13] USOLTSEVA RV, ANASTYUK SD, SURITS VV, *et al.* Comparison of structure and *in vitro* anticancer activity of native and modified fucoidans from *Sargassum feldmannii* and *S. duplicatum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 124: 220–228.
- [14] 王玉涵, 魏溢, 姜胤秀, 等. NaHSO₃/NaNO₂ 法修饰海带多糖及抗肿瘤活性研究[J]. *黑龙江医药*, 2021, 34(6): 1250–1254.
- [15] WANG YH, WEI Y, JIANG YX, *et al.* Study on the modification of *Laminaria Japonica* molysaccharide by NaHSO₃/NaNO₂ method and its antitumor activity [J]. *Heilongjiang Med*, 2021, 34(6): 1250–1254.
- [16] 谢苗, 亓小妮, 吴杨洋, 等. 多糖的化学修饰及其结构鉴定研究进展 [J]. *湖北农业科学*, 2021, 60(3): 11–17.
- [17] XIE M, QI XN, WU YY, *et al.* Research progress on chemical modification of polysaccharides and its structure identification [J]. *Hubei Agric Sci*, 2021, 60(3): 11–17.
- [18] ZHANG ZQ, TILL S, JIANG C, *et al.* Structure-activity relationship of the pro- and anticoagulant effects of *Fucus vesiculosus* fucoidan [J]. *Thromb Haemost*, 2014, 111(3): 429–437.
- [19] BOUHEDJA FH, ELLOUALI M, SINQUIN C, *et al.* Relationship between sulfate groups and biological activities of fucans [J]. *Thromb Res*, 2000, 100(5): 453–459.
- [20] HSIAO HH, WU TC, TSAI YH, *et al.* Effect of oversulfation on the composition, structure, and *in vitro* anti-lung cancer activity of fucoidans extracted from *Sargassum aquifolium* [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(4): 215.
- [21] USOLTSEVA RV, SHEVCHENKO NM, SILCHENKO AS. Determination of the structure and *in vitro* anticancer activity of fucan from *Saccharina dentigera* and its derivatives [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 206: 614–620.
- [22] WANG J, ZHANG QB, ZHANG ZS, *et al.* Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions

- extracted from *Laminaria japonica* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 46(1): 6–12.
- [20] FAN F, CAI C, WANG W, *et al.* Synthesis of fucoidan-mimetic glycopolymers with well-defined sulfation patterns via emulsion ring-opening metathesis polymerization [J]. *ACS Macro Lett*, 2018, 7(3): 330–335.
- [21] OLIVEIRA C, FERREIRA AS, NOVOA CR, *et al.* The key role of sulfation and branching on fucoidan antitumor activity [J]. *Macromol Biosci*, 2016, 17(5): 1600340.
- [22] RASIN AB, SILCHENKO AS, KUSAYKIN ML, *et al.* Enzymatic transformation and anti-tumor activity of *Sargassum horneri* fucoidan [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 246: 116635.
- [23] 阿地拉·艾皮热, 李金玉, 付长霜, 等. 硫酸多糖生物活性研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2019, 38(1): 7–13.
- ADILA AI, LI JY, FU CS, *et al.* Research progress on bioactivity of sulfate polysaccharide [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2019, 38(1): 7–13.
- [24] 孙文俊. 海参岩藻聚糖硫酸酯的酯化改性及其抗氧化活性研究[D]. 厦门: 集美大学, 2016.
- SUN WJ. Esterified modified of fucoidan from sea cucumber and its antioxidant activity study [D]. Xiamen: Jimei University, 2016.
- [25] LIU HD, WANG J, ZHANG QB, *et al.* The effect of different substitute groups and molecular weights of fucoidan on neuroprotective and anticomplement activity [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 113: 82–89.
- [26] BANKOVA V, POPOVA M, TRUSHEVA B. Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review [J]. *Chem Cent J*, 2014, 8: 28.
- [27] PIELESZ A, BINIAS W, PALUCH J. Mild acid hydrolysis of fucoidan: Characterization by electrophoresis and FT-Raman spectroscopy [J]. *Carbohydr Res*, 2011, 346(13): 1937–1944.
- [28] 王瑞芳, 吴光斌, 谢远红, 等. 氯磺酸-吡啶法酯化修饰海参岩藻聚糖硫酸酯的研究[J]. *内蒙古民族大学学报(自然科学版)*, 2016, 31(4): 288–292.
- WANG RF, WU GB, XIE YH, *et al.* Studies on sulfated modification of sea cucumber fucoidan by chlorosulfonic acid-pyridine method [J]. *J Inner Mongol Minzu Univ (Nat Sci)*, 2016, 31(4): 288–292.
- [29] CHEN CY, WANG SH, HUANG CY, *et al.* Effect of molecular mass and sulfate content of fucoidan from *Sargassum siliquosum* on antioxidant, anti-lipogenesis, and anti-inflammatory activity [J]. *J Biosci Bioeng*, 2021, 132(4): 359–364.
- [30] CHO ML, LEE BY, YOU SG. Relationship between oversulfation and conformation of low and high molecular weight fucoidans and evaluation of their *in vitro* anticancer activity [J]. *Molecules*, 2011, 16(1): 291–297.
- [31] TERUYA T, KONISHI T, UECHI S, *et al.* Anti-proliferative activity of oversulfated fucoidan from commercially cultured *Cladosiphon okamuranus* TOKIDA in U937 cells [J]. *Int J Biol Macromol*, 2007, 41(3): 221–226.
- [32] YU SH, TANG DW, HSIEH HY, *et al.* Nanoparticle-induced tight-junction opening for the transport of an anti-angiogenic sulfated polysaccharide across Caco-2 cell monolayers [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(7): 7449–7456.
- [33] 曲瑾郁, 任大明. 蛹虫草多糖的化学修饰及体外抗氧化能力[J]. *食品科学*, 2011, 32(15): 58–61.
- QU JY, REN DM. Chemical modification and *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides from *Cordyceps militaris* [J]. *Food Sci*, 2011, 32(15): 58–61.
- [34] 谢明勇, 王之珺, 谢建华. 多糖的硫酸化修饰及其结构与生物活性关系研究进展[J]. *中国食品学报*, 2015, 15(2): 1–8.
- XIE MY, WANG ZJ, XIE JH. Research progress on the sulfated modification of polysaccharides and its structure-bioactivities relationship [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2015, 15(2): 1–8.
- [35] MANSOUR MB, BALTI R, YACOUBI L, *et al.* Primary structure and anticoagulant activity of fucoidan from the sea cucumber *Holothuria polii* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 121: 1145–1153.
- [36] HE WT, SUN HH, SU LJ, *et al.* Structure and anticoagulant activity of a sulfated fucan from the sea cucumber *Acaudina leucoprocta* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 164: 87–94.
- [37] MISIAN M, BAUM E, BREBOROWICZ A. Secretory activity of the coronary artery endothelial cells in conditions of the peritoneal dialysis [J]. *Ren Fail*, 2022, 44(1): 54–61.
- [38] CARRANZA YE, ANDERSON D, DOCTOR V. Effect of oversulfated chondroitin-6-sulfate or oversulfated fucoidan in the activation of glutamic plasminogen by tissue plasminogen activator: Role of lysine and cyanogen bromide-fibrinogen [J]. *Blood Coagul Fibrin*, 2008, 19(1): 60–65.
- [39] YAO Y, YIM EKF. Fucoidan for cardiovascular application and the factors mediating its activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 270: 118347.
- [40] USTYUZHANINA NE, USHAKOVA NA, ZYUZUNA KA, *et al.* Influence of fucoidans on hemostatic system [J]. *Mar Drugs*, 2013, 11(7): 2444–2458.
- [41] WEELDN G, BOBINSKI M, OKLAK, *et al.* Fucoidan structure and activity in relation to anti-cancer mechanisms [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(1): 32.
- [42] SILCHENKO AS, RASIN AB, ZUEVA AO, *et al.* Discovery of a fucoidan *endo-4O-sulfatase*: Regioselective 4O-desulfation of fucoidans and its effect on anticancer activity *in vitro* [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 271: 118449.
- [43] SOEDA S, KOZAKA T, IWATA K, *et al.* Oversulfated fucoidan inhibits the basic fibroblast growth factor-induced tube formation by human umbilical vein endothelial cells: Its possible mechanism of action [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2000, 1497(1): 127–134.
- [44] HEES B. Fucoidan from brown algae [J]. *J Cancer Res Clin*, 2021, 53(4): 148–156.
- [45] ZHONG QW, WEI B, WANG SJ, *et al.* The antioxidant activity of polysaccharides derived from marine organisms: An overview [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(12): 674.
- [46] FERNANDO LPS, SANJEEWA KKA, LEE HG, *et al.* Characterization and cytoprotective properties of *Sargassum natans* fucoidan against urban aerosol-induced keratinocyte damage [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 159: 773–781.
- [47] SONG YF, HE P, RODRIGUES AL, *et al.* Anti-SARS-CoV-2 activity of rhamnan sulfate from *Monostroma nitidum* [J]. *Mar Drugs*, 2021, 19(12): 685.
- [48] SAHA S, NAVID MH, BANDYOPADHYAY SS, *et al.* Sulfated polysaccharides from *Laminaria angustata*: Structural features and *in vitro* antiviral activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 87(1): 123–130.
- [49] GONZALEZ RE, SUAREZ EC, MARIE DR, *et al.* *In vitro* characterization of the antiviral activity of fucoidan from *Cladosiphon*

- okamuranus* against Newcastle Disease Virus [J]. *Virology*, 2012, 9(1): 307–316.
- [50] KWON PS, OH H, KWON SJ, *et al.* Sulfated polysaccharides effectively inhibit SARS-CoV-2 *in vitro* [J]. *Cell Discov*, 2020, 6(1): 1–4.
- [51] KOIKE T, SUGIMOTO A, KOSONO S, *et al.* Synthesis of low-molecular weight fucoidan derivatives and their binding abilities to SARS-CoV-2 spike proteins [J]. *RSC Med Chem*, 2021, 12(12): 2016–2021.
- [52] CHO ML, HAN JH, YOU SG. Inhibitory effects of fucan sulfates on enzymatic hydrolysis of starch [J]. *Food Sci Technol*, 2011, 44(4): 1164–1171.
- [53] KIM KT, RIOUX LE, TURGEON SL. Molecular weight and sulfate content modulate the inhibition of α -amylase by fucoidan relevant for type 2 diabetes management [J]. *Pharma Nutr*, 2015, 3(3): 108–114.
- [54] WEN YX, GAO LY, ZHOU HS, *et al.* Opportunities and challenges of algal fucoidan for diabetes management [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 111: 628–641.
- [55] HU SW, CHEN SC, ZHU HL, *et al.* Low molecular weight, 4-O-sulfation, and sulfation at meta-fucose positively promote the activities of sea

cucumber fucoidans on improving insulin resistance in HFD-fed mice [J]. *Mar Drugs*, 2022, 20(1): 37.

(责任编辑: 张晓寒 于梦娇)

作者简介



刘岩, 硕士, 主要研究方向为海藻资源综合利用。

E-mail: 377601386@qq.com



任丹丹, 博士, 教授, 主要研究方向为海洋生物资源利用。

E-mail: rdd80@163.com