

岩藻多糖的抗氧化功能研究进展

徐元庆*, 王哲奇, 张静, 范依霖

内蒙古农业大学动物科学学院, 呼和浩特 010018

摘要:岩藻多糖是一种独特的天然硫酸化多糖,主要存在于多种褐藻的细胞外基质中。在过去的数十年中,岩藻多糖因其所具有的抗氧化特性,被广泛用作化妆品、功能食品以及水产养殖和牲畜饲料补充剂中的活性成分。本文总结了岩藻多糖的结构和抗氧化活性及其抗氧化活性调控机制的研究进展。

关键词:岩藻多糖;分子结构;抗氧化;调控机制

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)10-1782-12

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.10.021

Research advance on antioxidant function of fucoidan

XU Yuan-qing*, WANG Zhe-qi, ZHANG Jing, FAN Yi-lin

College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China

Abstract: Fucoidin, mainly found in various species of brown seaweed extracellular matrix, is one kind of natural sulfated polysaccharides. In the past decades, fucoidin are widely used as active ingredient in cosmetics, functional food, medicine, aquaculture and livestock feed supplements because of their antioxidant properties. This article summarizes the research advances on the molecular structure and antioxidant potential of fucoidan and its underlying antioxidant mechanism.

Key words: fucoidan; molecular structure; antioxidant; mechanism

岩藻多糖,也称褐藻多糖、褐藻多糖硫酸酯、褐藻糖胶等。岩藻多糖是一种独特的水溶性硫酸化多糖,主要存在于多种褐藻的细胞外基质和几种海洋无脊椎动物中,是褐藻细胞外基质中的主要成分,具有多种生物活性。在过去的数十年中,从不同褐藻和几种海洋无脊椎动物中分离出的岩藻多糖因其多种生物活性而受到广泛关注和研究,包括抗凝血、抗病毒、抗肿瘤、抗炎、降血脂、抗氧化等活性^[1]。由于高可用性和功能特性,特别是其所具有的抗氧化特性,岩藻多糖被广泛用作化妆品、功能食品、膳食补充剂以及水产养殖和牲畜饲料补充剂中的活性成分。本文总结了岩藻多糖的结构和抗氧化活性及其抗氧化活性调控机制的研究进展。

1 来源和分子结构

岩藻多糖是一种天然的硫酸化多糖,广泛分布在褐色海藻的细胞壁基质中^[2],主要功能是充当细

胞壁中半纤维素和纤维素之间的交联剂,以保持细胞的完整性^[3]。包括 *Adenocystis utricularis*^[4]、*Chorda filum*^[5]、*Cladosiphon okamuranus*^[6]、*Dictyota menstrualis*^[7]、*Fucus evanescens*^[8]、*Fucus vesiculosus*^[9]、*Fucus distichus* L.^[10]、*Fucus serratus* L.^[11]、*Hizikia fusiforme*^[12]、*Laminaria japonica*^[13]、*Laminaria cichorioides*^[14]、*Lobophora variegata*^[15]、*Padina gymnospora*^[16]、*Stoechospermum marginatum*^[17]、*Sargassum stenophyllum*^[18]和 *Undaria pinnatifida*^[19]等。此外,这种生物聚合物也存在于一些海洋无脊椎动物中,如海参 *Ludwigothurea grisea*^[20]或海胆 *Lytechinus variegatus*^[21]、*Echinometra lucunter*^[21]、*Arbacia lixula*^[21]、*Strongylocentrotus pallidus*^[22]和 *Strongylocentrotus droebachiensis*^[22]等。

岩藻多糖是异源的且是结构相关多糖的混合物,其具有碳水化合物单元和非碳水化合物取代基含量的某些变化^[1]。通常,岩藻多糖的化学结构复杂,主要由 L-岩藻糖和硫酸盐残基组成。此外,它们还含有其他单糖如葡萄糖、半乳糖、甘露糖、木糖、鼠李糖或糖醛酸等成分,甚至还含有乙酰基和蛋白

收稿日期:2020-03-14 接受日期:2020-08-19

基金项目:内蒙古农业大学高层次人才引进科研启动项目(NDYB 2018-25);内蒙古农业大学动物科学学院青年基金(QN201924)

* 通信作者 Tel:86-015391128825; E-mail: xuyuanqing@imau.edu.cn

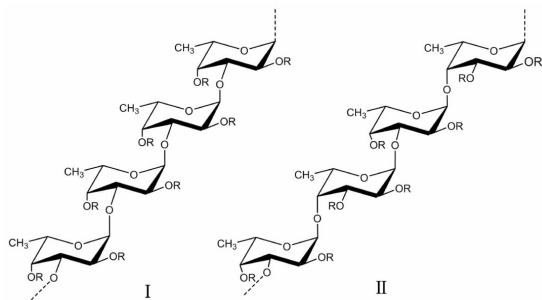


图1 岩藻多糖的I型链和II型链

Fig. 1 Type I and type II chains of fucoidan

注:R是碳水化合物(α -L-岩藻糖基、 α -D-葡萄糖醛酸)和非碳水化合物(硫酸盐和乙酰基)取代基的潜在附着物。Note: R is potential attachment of carbohydrate (α -L-fucopyranose, α -D-glucuronic acid) and non-carbohydrate (sulfate and acetyl groups) substituents.

质^[6,11],但所有这些都占岩藻糖苷总结构的10%以下。对于含有大量糖醛酸和己糖的岩藻多糖,结构核心可以由交替的糖醛酸-己糖构建,因为这种结构非常稳定,其他单糖主要存在于核心的分支中^[16]。岩藻多糖是一种聚阴离子硫酸化多糖,根据 Cumashi 等^[1]的说法,岩藻多糖中的多糖主链被称为I型链或II型链(图1),I型链含有重复的(1 \rightarrow 3)连接的 α -L-吡喃岩藻糖残基,而II型链含有交替的(1 \rightarrow 3)和(1 \rightarrow 4)连接的 α -L-吡喃岩藻糖残基。*Chorda filum* 和 *Ecklonia kurome* 中的岩藻多糖呈现(1 \rightarrow 3)连接的吡喃葡萄糖的结构特征^[5,23]。从 *Hizikia fusiforme* 中分离出的岩藻多糖主要是岩藻糖,半乳糖,甘露糖,木糖和糖醛酸组成,硫酸盐含量为21.8%,而一些岩藻糖具有两个硫酸根^[12]。根据主链的结构,岩藻多糖可以在岩藻糖残基的C-2位、C-4位或两个位置处被硫酸化,偶尔也位于C-3位。

岩藻多糖结构和单糖组成根据不同因素而变化,例如岩藻多糖的来源,收获时间和收获地点以及提取方法,都影响岩藻多糖的结构和生物活性。

不同来源的岩藻多糖具有不同的结构和单糖组成。Feng 等^[24]采用超声辅助水提法,从 *Laminaria japonica* 和 *Undaria pinnatifida* 提取多糖,*L. japonica* 主要由甘露糖、葡萄糖、半乳糖、木糖和核糖组成,且主成分为甘露糖;*U. pinnatifida* 主要由甘露糖、半乳糖、木糖和核糖组成,且主成分为半乳糖。从 *Chorda filum* 分离的岩藻多糖含有高度支化的(1 \rightarrow 3)-吡喃葡萄糖残基骨架。从 *Ecklonia kurome* 中分离出的岩藻多糖部分具有高度支化的结构,其主链也是(1 \rightarrow 3)-L-吡喃葡萄糖残基,硫酸基主要附着

于C-4位^[23]。然而,在一些褐色海藻中也可以发现(1 \rightarrow 2)或(1 \rightarrow 4)连接的吡喃葡萄糖残基骨架。*Himanthalia lorea* 和 *Bifurcaria bifurcata* 的岩藻多糖具有(1 \rightarrow 2)-和(1 \rightarrow 3)-连接的吡喃葡萄糖残基,在C-4处具有硫酸化作用。来自 *Stoechospermum marginatum* 的岩藻多糖具有(1 \rightarrow 3)-(和1 \rightarrow 4)-连接的 α -L-吡喃葡萄糖残基骨架,并且主要在C-2和(或)C-4处被硫酸化^[17]。从 *Ascophyllum nodosum* 中纯化的岩藻多糖部分由高度支化的核心区组成,主要含有 α -(1 \rightarrow 3)-吡喃葡萄糖残基和少量 α -(1 \rightarrow 4)-吡喃葡萄糖残基,硫酸盐基团位于C-2位和(或)C-4位^[25]。

相同的特定褐色海藻可能产生不同结构的岩藻多糖。Duarte 等^[18]报道,*Sargassum stenophyllum* 生物合成了两组不同的岩藻多糖。其中之一的特征是较高百分比的糖醛酸和较少的硫酸基团,其位于不同的岩藻糖残基上,岩藻糖是主要成分,但其他单糖如半乳糖,甘露糖,糖醛酸,葡萄糖和木糖含量也较大。另一种岩藻多糖含有少量的糖醛酸和高百分比的硫酸盐基团,它们集中在岩藻糖残基上,只有岩藻糖和半乳糖作为主要成分。

相同的特定褐色海藻不同的采集时间可能具有不同结构的岩藻多糖。采用氯化钙萃取法,对 *Undaria pinnatifida* 进行了岩藻成分和含量的研究。从2011年7月至10月从 *U. pinnatifida* 中每月提取粗岩藻多糖。从7月到9月,提取的岩藻多糖中硫酸基含量增加了2倍以上,而岩藻糖含量保持不变^[19]。*U. pinnatifida* 孢子体来源的岩藻多糖中硫酸盐的含量从7月至9月增加,然后在10月下降。叶片衍生的岩藻多糖的硫酸盐含量在7月至9月之间也显著增加,然后在10月显著下降。从7月到9月,孢子囊岩藻多糖的硫酸盐含量显著增加了2倍以上。这些结果表明,*Undaria pinnatifida* 的成熟可能直接影响岩藻多糖中硫酸盐基团的数量,尤其是孢子囊中的硫酸盐基团的数量^[19]。这些结果与 Honya 等^[13]报道的结果一致,显示了 *Laminaria japonica* 中岩藻多糖硫酸盐含量变化的相似趋势,其中硫酸盐的摩尔比随着藻类的成熟(4~9月)而增加,9月份叶片中糖醛酸含量的陡增很可能是由于如孢子囊形成和叶片轻微腐烂等新陈代谢发生变化所致。

相同的特定褐色海藻不同的部位可能具有不同结构的岩藻多糖。*U. pinnatifida* 叶状体和孢子叶部

分的产量各不相同,其中孢子叶的含量最高。对岩藻多糖的岩藻糖含量进行测定后发现,*U. pinnatifida* 叶片衍生岩藻多糖在7月至10月之间显著下降,孢子囊来源的岩藻多糖中的岩藻糖含量则保持不变^[19]。类似的,Skriptsova等^[26]报道,*U. pinnatifida* 在孢子发生过程中,孢子囊来源的岩藻多糖的岩藻糖含量也没有显著变化,叶片的降解可能是源自叶片的岩藻多糖中岩藻糖含量下降的原因。从7月到9月,孢子囊岩藻多糖的硫酸盐含量显著增加了2倍以上,叶片衍生的岩藻多糖的硫酸盐含量则保持不变^[19]。但是,*U. pinnatifida* 叶状体成熟形成孢子囊时,中性糖的组成会发生变化,甘露糖含量随孢子囊的生长而下降4.7倍,半乳糖含量从27.0 mol% 上升至42.8 mol%,岩藻糖和半乳糖的摩尔比从1:0.51变为1:0.80^[26]。Lee等^[27]和Mak等^[19]从*U. pinnatifida* 的孢子叶中提取的岩藻多糖分子量分别约为9 kDa和171 kDa,而从*U. pinnatifida* 全叶中提取的岩藻多糖的分子量则为710 kDa^[28]。此外,从*Lessonia nigrescence* 的根部和茎部提取粗岩藻多糖,2种多糖均是以岩藻糖为主要单糖,木糖和半乳糖含量较高的硫酸化岩藻多糖,但根部中甘露糖醛酸含量高达73%,明显高于茎部的61%,且其硫酸盐基团分别主要在C4和C2/C3位上^[29]。这就表明,褐色海藻不同部位的岩藻多糖的含量和结构有所不同。

通过不同方法提取和纯化的岩藻多糖也可能具有不同的结构。岩藻多糖是水溶性多糖,故岩藻多糖的提取多用传统的水提取法和酸提取法,提取温度和所用溶剂都会影响岩藻多糖的组成和结构。在不同温度条件(90~150℃)下提取*Ascophyllum nodosum* 中的岩藻多糖,在90℃提取的岩藻多糖的主要单糖是岩藻糖,而在150℃时提取的岩藻多糖的主要单糖是葡萄糖醛酸,且随着萃取温度的降低,岩藻多糖的分子量和硫酸盐含量均增加^[30]。Ponce等^[4]也报道,在室温下提取的*Adenocytis utricularis* 的岩藻多糖主要由岩藻糖,半乳糖和硫酸酯组成。在70℃提取的岩藻多糖主要由岩藻糖组成,伴有其他单糖(主要是甘露糖、葡萄糖、木糖、鼠李糖和半乳糖),大量的糖醛酸和低比例的硫酸酯。在较高的温度下较长的提取时间会导致较高的多糖提取率,而岩藻糖含量和硫酸盐含量随时间延长而下降,而葡萄糖醛酸的比例较高^[4,18]。同样在70℃的提取温度下,以蒸馏水、2%氯化钙溶液和稀盐酸(pH

=2)溶液作为溶剂,同样获得不同组分和结构的岩藻多糖,与氯化钙溶剂相比,利用稀盐酸进行萃取,多糖提取率较高,且具有较高的蛋白质、糖醛酸、甘露糖和葡萄糖含量,但具有较低的硫酸盐含量和较大的分子量^[4]。Shan等^[31]分别采用稀盐酸法和氯化钙法提取岩藻多糖并进行理化性质分析和比较,也发现稀盐酸法提取岩藻多糖提取率显著高于氯化钙法,但所得岩藻多糖的硫酸基含量和绝对分子量都明显降低。因为盐酸可能引起细胞壁基质的松散,从而使酸局部渗入岩藻多糖,造成多糖主链断裂及硫酸基脱落,破坏岩藻多糖的结构。此外,超声波提取法、酶辅助提取法、微波辐照提取法等新型方法利用超声波、酶和微波破坏细胞壁的骨架结构,促使细胞内的活性成分岩藻多糖流出,缩短提取时间且反应条件温和而广受关注。与热水提取法比较,超声辅助提取海带岩藻多糖,能够增加多糖提取率,岩藻糖和硫酸基含量也更高,这是由于较高的温度会在一定程度上破坏多糖分子结构,降低其硫酸基含量。Guo等^[32]利用超声波对海参中岩藻多糖进行处理后,岩藻多糖的分子量明显降低,线性四糖重复单元保持为原始多糖,中间的非硫酸化岩藻糖单元被轻微破坏。Choi等^[33,34]利用 γ 射线对岩藻多糖进行辐射处理,能够显著提高岩藻多糖分子中羟基和不饱和键的含量,硫酸盐含量保持不变,但岩藻多糖的分子量随着 γ 辐照剂量的增加而下降,因为具有较高分子量的岩藻多糖由于辐射产生的自由基发生分裂的可能性更高而被更严重地降解。

基于岩藻多糖来源和结构的复杂性及多种生物学活性,近些年已对其进行了广泛的生物学研究以探究其所具有的生物学特性,例如抗氧化活性。

2 抗氧化活性

正常生理过程中,机体会产生一定量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),适量的ROS参与机体的信号传导、细胞分裂、免疫应答和细胞自噬等正常生理过程。然而,当机体受到不利刺激时,ROS就会过量产生,或其清除能力受阻,导致机体抗氧化系统失衡,从而导致氧化应激^[2]。这会导致许多健康问题,如癌症,糖尿病,严重组织损伤的神经退行性疾病和炎症性疾病等。近年来,从多种海藻和一些海洋无脊椎动物中分离出的岩藻多糖已被证明是潜在的ROS清除剂。

2.1 体外抗氧化活性

不同来源的岩藻多糖在体外具有强大的ROS

清除能力,是一种极好的天然抗氧化剂。源自食用海藻 *Fucus vesiculosus* 的岩藻多糖可以防止 $O_2^{\cdot-}$ 、 $\cdot OH$ 和脂质过氧化物(LPO)的形成^[35]。*Undaria pinnatifida* 岩藻多糖表现出强的 DPPH 和 $\cdot OH$ 清除活力,以及强的总抗氧化能力^[2]。*Canistrocarpus cervicornis* 中提取的岩藻多糖表现出明显的总抗氧化能力,并具有良好的 $O_2^{\cdot-}$ 清除效率^[36]。*Laminaria japonica* 中获得的岩藻多糖具有 $\cdot OH$ 和 $O_2^{\cdot-}$ 清除能力^[37],并且其对 $O_2^{\cdot-}$ 清除活性高于人工合成的抗氧化剂丁基羟基茴香醚(BHA)和二丁基羟基甲苯(BHT)^[38],这些结果均表明岩藻多糖是一种良好的抗氧化剂。

体外细胞试验也表明岩藻多糖具有良好的抗氧化活性。Chale-Dzul 等^[39]发现岩藻多糖表现出良好的对 HepG2 细胞中 ROS 的清除活性,而且它们还增加了谷胱甘肽(GSH)水平并恢复了 H_2O_2 对过氧化氢酶(CAT)活性的抑制。岩藻多糖能够逆转 H_2O_2 对大鼠 PC12 细胞中的超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)活性的抑制,从而清除 H_2O_2 诱导的 PC12 细胞中 ROS 的形成并降低丙二醛(MDA)的含量^[40]。此外,岩藻多糖增强了人 HaCaT 细胞中抗氧化剂血红素加氧酶-1(HO-1)和 SOD1 的基因表达和蛋白表达,从而发挥抗氧化活性^[41]。在 H_2O_2 处理的猪肠上皮细胞系(IPEC-1)中,岩藻多糖使 GPx 活性和 GSH 含量以及醌氧化还原酶1(NQO1)和 SOD1 的基因表达正常化,同时防止产生过量的 MDA,从而抑制 H_2O_2 诱导 IPEC-1 的坏死增加^[42]。

不同来源的岩藻多糖具有不同的抗氧化活性。Chale-Dzul 等^[39]系统评估来自热带海藻的岩藻多糖的抗氧化潜力,发现从热带褐藻 *Dictyota ciliolata*、*Padina sanctaecrucis* 和 *Sargassum fluitans* 中提取的岩藻多糖对 HepG2 细胞的氧化应激有保护作用。其中,源于 *Dictyota ciliolata* 的岩藻多糖表现出最高的 ROS 清除活性(26%),其次是来源于 *Padina sanctaecrucis* 的岩藻多糖(22%)和来源于 *Sargassum fluitans* 的岩藻多糖(14%)。Costa 等^[43]描述了来自 11 种热带海洋藻类的岩藻多糖的抗氧化功能,*Codium isthmocladum* 和 *Spatoglossum schroederi* 来源的岩藻多糖总抗氧化能力最低,分别为 9.2 mg/g 和 14.4 mg/g Vc 当量,来自 *Gracilaria caudata* 的岩藻多糖具有最大的总抗氧化能力,其 Vc 当量约为 53.9 mg/g。当浓度为 0.5 mg/mL 时,来自 *Dictyota*

mertensii、*D. menstrualis*、*Gracilaria caudata* 和 *Caulerpa sertularioides* 的岩藻多糖显示出 8.7%、7.5%、8.0% 和 11.8% 的 $\cdot OH$ 清除能力,其余 7 种来源岩藻多糖均未表现出 $\cdot OH$ 清除活力。相同浓度下,*Gracilaria caudata*、*Sargassum filipendula* 和 *Spatoglossum schroederi* 没有显示出 $O_2^{\cdot-}$ 清除活性,*Caulerpa sertularioides*、*Dictyota cervicornis* 和 *Dictyopteris delicatula* 的 $O_2^{\cdot-}$ 清除率分别为 23.3%、29.4% 和 32.5%。当浓度为 1 mg/mL 时,来自 *Padina tetras-tomatica* 和 *P. gymnospora* 的岩藻多糖的 DPPH 清除率分别为 77.55% 和 44.52%^[44]。而来自 *Sargassum graminifolium* 和 *S. tenerrimum* 的岩藻多糖的 DPPH 清除率约为 65%^[45,46]。

提取方法也会影响褐藻岩藻多糖的抗氧化活性。Imbs 等^[47]使用热酸法和无水 $CaCl_2$ 法 2 种方法从 *Fucus evanescens* 中提取岩藻多糖,热酸法提取的岩藻多糖和无水 $CaCl_2$ 法提取的岩藻多糖,硫酸根的质量分数分别为 9.0% 和 40.3%,岩藻糖的质量分数分别为 59.4% 和 90.0%。在浓度为 1.0 mg/mL 时,热酸法提取的岩藻多糖和无水 $CaCl_2$ 法提取的岩藻多糖的 DPPH 自由基清除率分别为 57.6% 和 19.4%。因此,提取方法不同,导致岩藻多糖化学组成不同,从而会对其抗氧化活性产生影响。

分子量会影响岩藻多糖的抗氧化活性。低分子量 *Laminaria japonica* 岩藻多糖对 Cu^{2+} ,亲水性自由基 AAPH 和亲脂性自由基 AMVN 诱导的低密度脂蛋白氧化具有很强的抑制作用,而高分子量岩藻多糖的抑制作用很小^[48,49]。Qi 等^[50]研究了源自 *Ul-vapretusa kjellm* 的不同分子量(151.7、64.5、58.0 和 28.2 kDa)岩藻多糖的抗氧化功能,发现低分子量岩藻多糖显示出对 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 的显著抑制作用,表明,低分子量岩藻多糖具有较强的抗氧化活性。但 Hou 等^[51]降解岩藻多糖得到不同分子量的样品(1.0、3.8、8.3、13.2、35.5、64.3 和 144.5 kDa),分子量较低的样品(1.0 kDa 和 3.8 kDa)具有较弱的 $O_2^{\cdot-}$ 清除活性,而其他样品则表现出相似的高 $O_2^{\cdot-}$ 清除活性。此外,Mak 等^[19]也测试了四种不同分子量(171、81、22 和 27 kDa)岩藻多糖的抗氧化功能,发现具有最强 DPPH 抑制活性的岩藻多糖也具有最高的分子量。这表明高分子量岩藻多糖可能具有更高的抗氧化活性。Hou 等^[51]同时研究了另外 5 个分子量分别为 1.8、6.1、7.5、20.3 和 80.3 kDa 岩藻多糖样品的 $\cdot OH$ 清除活性与分子量的关系,发现

其·OH清除活性在1.5~4.0 kDa和约80 kDa的分子量范围内的样品具有较高的抑制作用。分子量在10.0~20.5 kDa范围内的样品的抑制度较低,并未呈现明显的线性关系。以上结果表明,岩藻多糖的分子量和抗氧化活性之间的关系非常复杂,并不是简单的线性关系。岩藻多糖分子量影响其体外抗氧化活性的机制可能与其ROS捕获能力有关,但并无直接证据证明这一推论,而且分子量也并不是影响岩藻多糖抗氧化活性的唯一因素。

硫酸化是岩藻多糖抗氧化活性的另一个关键因素。Wang等^[52]对从*Laminaria japonica*中得到的岩藻多糖进行硫酸化、乙酰化以及苯甲酰化,并用·OH清除率评价其抗氧化活性,结果表明这3种岩藻多糖的EC₅₀分别为2.58、2.14、0.51 mg/mL。所以,多糖片段上取代基也会对岩藻多糖的抗氧化活性产生影响。硫酸盐含量和位置与其抗氧化能力相关,高硫酸盐含量(25.19%)的岩藻多糖DPPH清除活性显著高于低硫酸盐含量(6.96%)的岩藻多糖,表明硫酸盐含量是除分子量外可能与岩藻多糖的生物活性相关的因素^[19]。Qi等^[53]研究了*Ulva-pretusa kjellm*中多糖及其硫酸酯化衍生物的抗氧化活性,研究发现高硫酸化修饰的多糖比天然多糖具有更好的·OH清除作用。硫酸盐含量与清除O₂^{·-}能力之间呈正相关性,硫酸盐含量/岩藻糖的比例是样品抗氧化活性的有效指标。一方面硫酸化影响岩藻多糖的抗氧化活性机理与其金属螯合能力有关,金属离子催化ROS的产生,硫酸根具有较强的金属螯合能力,因此螯合能力可能会影响其ROS的清除活性^[54]。另一方面,我们推测硫酸化影响岩藻多糖的空间结构,这可能会影响其活性基团的暴露,从而影响其抗氧化活性。

此外,岩藻多糖的组成影响其抗氧化活性。L-岩藻糖难以被ROS降解,不具有清除ROS的能力。然而,ROS容易与半乳糖、甘露糖和糖醛酸反应,裂解糖苷键并氧化糖醛酸,然后岩藻多糖通过还原反应清除ROS,据此得出,半乳糖、甘露糖和糖醛酸含量(比例)对ROS具有明显的清除作用^[55]。

综合而言,岩藻多糖的来源,提取方法,分子量、组分和硫酸基团的含量和位置等都可能影响岩藻多糖的抗氧化活性。

2.2 体内抗氧化活性

过多的ROS对细胞本身、组织及生物大分子有破坏作用,而脂质过氧化加速又可造成正常细胞的

破坏和死亡。人体内产生的ROS会攻击大分子化合物如脂质、蛋白质和DNA/RNA,从而导致衰老、帕金森病、糖尿病和炎症等疾病。但是,细胞中存在一些抗氧化剂,例如酶系抗氧化剂CAT、SOD、GPx和非酶系抗氧化剂GSH、Vc、Ve等,可清除ROS以防止细胞损伤。SOD能够将细胞内的O₂^{·-}转化为H₂O₂,通常被视为抵抗由ROS引起的组织和细胞损伤的主要防御线,而CAT和GPx通过酶促反应将H₂O₂歧化为水和分子氧而提供了第二道防御力。体内研究发现,岩藻多糖通过调节抗氧化系统发挥缓解氧化应激作用。

目前,关于岩藻多糖的抗氧化活性研究主要集中在大鼠和小鼠模型上,多种研究发现,通过口服或注射一定剂量的岩藻多糖对衰老、肥胖、胃肠损伤、肝损伤、创伤性脑损伤、缺血-再灌注损伤、肾病、高草酸尿症、帕金森病、糖尿病和关节炎等损伤或疾病具有增强抗氧化功能(表1)。岩藻多糖的给药方式以口服或灌胃为主,给药剂量为10~500 mg/kg。部分研究通过腹腔注射给药,给药剂量为12.5~400 mg/kg。少量研究通过皮下注射给药,给药剂量为5 mg/kg。绝大多数研究都发现,在各种疾病或损伤动物模型中,不管以何种给药方式,岩藻多糖都会通过增强抗氧化酶活性(包括CAT、SOD、GPx、GR)和非酶抗氧化剂的含量(特别是GSH)来增强机体的抗氧化功能。但需要特别指出的是,同样在IRI的动物模型中,腹腔注射岩藻多糖降低了大鼠脑组织的SOD活性^[56],却增加了小鼠肾脏组织的SOD活性^[57]。另外,在完全弗氏佐剂诱导关节炎大鼠模型中,通过灌胃给药岩藻多糖降低了血清中CAT、POD和SOD活性^[2],作者推测这可能是岩藻多糖进入机体内会直接清除体内产生的ROS,从而降低内源性抗氧化酶的表达,但这种推论需要进一步的分子研究以明确其确切的机制。

2.3 体内抗氧化活性调控机理

2.3.1 Keap1-Nrf2-ARE 调控途径

Kelch样环氧氯丙烷相关蛋白-1(kelch-like ECH-associated protein-1,Keap1)-核转录因子E2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2,Nrf2)-抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE)信号通路是机体抵抗氧化应激关键的防御性转导通路。通常,在不受应激的细胞中,抑制蛋白Keap1与Nrf2形成复合物,从而将Nrf2隔离在细胞质中,使其无法进入细胞核导致转录活性被抑制。

表 1 岩藻多糖的体内抗氧化活性

Table 1 Antioxidant activity of fucoidan *in vivo*

来源 Source	剂量 Dose (mg/kg)	给药方式 Way of drug delivery	试验动物 Animal	刺激物/模型 Stimulus/model	测定部位 Sample	测定指标 Measurement index	参考文献 Ref.
<i>Laminaria japonica</i>	200	灌胃	雄性昆明小鼠	D-半乳糖诱导 氧化损伤	血清 肝脏	MDA ↓、SOD ↑、 CAT ↑、GPx ↑	58
<i>Porphyra haitanesis</i>	100 200 400	腹腔注射	昆明小鼠	衰老	肺脏、肝脏、心脏、 脑、脾脏	MDA ↓、SOD ↑、 GPx ↑、T-AOC ↑	59
<i>Laminaria japonica</i>	50 100 200	腹腔注射	昆明小鼠	衰老	血清 全血	MDA ↓、SOD ↑、GPx ↑	60
<i>Cladosiphon okamuramus</i>	150 300	灌胃	Wistar 大鼠	高脂饲料/ 高脂血症	血清	ROS ↓、MDA ↓、 SOD ↑、	61
<i>Kjellmaniella crassifolia</i>	100 300	灌胃	雄性 Wistar 大鼠	高脂血症	肝脏	SOD ↑、GPx ↑、MDA ↓	62
<i>Cladosiphon okamuramus</i>	32 64 320	灌胃	雄性 SD 大鼠	肥胖	血浆	MDA ↓、SOD ↑	63
<i>Acaudinamol padioides</i>	80	灌胃	雄性 C57BL/ 6J 小鼠	STZ/HFD 诱导的 2 型糖尿病	肾脏	MDA ↓、SOD ↑、 CAT ↑、GPx ↓	64
<i>Laminaria japonica</i>	10 50 150 300	灌胃	雄性昆明小鼠	四氧嘧啶糖尿病	血清、肝脏、脾脏	LPO ↓	65
<i>Laminaria japonica</i>	50 100	灌胃	雄性 GK 大鼠	糖尿病	心脏	MDA ↓、SOD ↑	66
<i>Cladosiphon okamuramus</i>	150	口服	雄性 Wistar 大鼠	ISO 诱发心肌梗塞	心脏	LPO ↓、SOD ↑、CAT ↑、 GPx ↑、GST ↑、GSH ↑	6
<i>Turbinaria conoides</i>	50 100 150	口服	雄性 Wistar 大鼠	ISO	心脏	SOD ↑、CAT ↑、GPx ↑、 GRx ↑、GSH ↑	67
<i>Acaudina molpadioides</i>	100	灌胃	雄性 SD 大鼠	80% 乙醇诱 导胃溃疡	胃	SOD ↑、GPx ↑、TBARS ↓	68
-	83 167 334	灌胃	雄性 SD 大鼠	无水乙醇致胃粘膜损伤	胃	MDA ↓、SOD ↑	69
<i>Undaria pinnatifida</i>	10 20 40	口服	雄性 SD 大鼠	顺铂诱导的胃肠 道功能障碍	胃	MDA ↓、GSH ↑、 CAT ↑、SOD ↑	70
<i>Fucus vesiculosus</i>	100	口服	雄性 Wistar 大鼠	非酒精性 脂肪肝病	肝脏	MDA ↓、GSH ↑	9
<i>Turbinaria decurrens</i>	75	口服	雄性 Wistar 大鼠	20% 乙醇 致酒精中毒	肝脏	SOD ↑、GPx ↑、 CAT ↑、GSH ↑	71
-	100 200	灌胃	ICR 小鼠	APAP 诱导肝损伤	肝脏	ROS ↓、MDA ↓ GSH ↑、SOD ↑、CAT ↑	72
-	100	口服	雄性 SD 大鼠	APAP 诱导肝损伤	肝脏	MDA ↓、GSH ↑、 SOD ↑、GPx ↑	73
<i>Fucus vesiculosus</i>	100	口服	雄性 SD 大鼠	DMN/肝纤维化	血浆 肝脏	MDA ↓、SOD ↑、GPx ↑	74

续表 1 (Continued Tab. 1)

来源 Source	剂量 Dose (mg/kg)	给药方式 Way of drug delivery	试验动物 Animal	刺激物/模型 Stimulus/model	测定部位 Sample	测定指标 Measurement index	参考文献 Ref.
<i>Undaria pinnatifida</i>	100	腹腔注射	雌性 SD 大鼠	CCl ₄	肝脏	MDA ↓、CAT ↑、 SOD ↑、GPx ↑	75,76
<i>Laminaria japonica</i>	100						
<i>Kjellmaniella crassifolia</i>	300	口服	雄性小鼠	CCl ₄	肝脏	MDA ↓、GSH ↑、SOD ↑	77
<i>Costaria costata</i>	300	口服	小鼠	CCl ₄	肝脏	MDA ↓、SOD ↑	78
<i>Fucus vesiculosus</i>	5	皮下注射	雄性大鼠	环孢霉素 A	脾脏	GSH ↑、SOD ↑	79
<i>Fucus vesiculosus</i>	5	皮下注射	雄性 Wistar 大鼠	0.75% 乙二醇诱 导高草酸尿症	血浆 肾脏	ROS ↓、MDA ↓、SOD ↑、 GPx ↑、GR ↑、GSH ↑	80,81
<i>Fucus vesiculosus</i>	5	饮水	雄性 Wistar 大鼠	0.75% 乙二醇诱 导高草酸尿症	红细胞	CAT ↑、SOD ↑、 GPx ↑、MDA ↓	82
<i>Laminaria japonica</i>	50	口服	雄性 Wistar 大鼠	腺嘌呤诱 导慢性肾病	血清 肝脏	MDA ↓、GSH ↑、 CAT ↑、GPx ↑	83
<i>Laminaria japonica</i>	35						
<i>Laminaria japonica</i>	70	灌胃	雄性 SD 大鼠	鱼藤酮诱导的 帕金森病	中脑腹侧	MDA ↓、3-NT ↓、 8-OHdG ↓	84
<i>Laminaria japonica</i>	140						
<i>Laminaria japonica</i>	12.5	腹腔注射	雄性 C57BL/6 小鼠	MPTP 诱导 帕金森病	黑质细胞	MDA ↓、SOD ↑、GPx ↑、 CAT ↑、GSH ↑、T-AOC ↑	85
<i>Laminaria japonica</i>	25						
<i>Laminaria japonica</i>	100	口服	SD 大鼠	Aβ 肽引起的认知障碍	海马体	MDA ↓、SOD ↑、GPx ↑	86
<i>Laminaria japonica</i>	200						
-	50	腹腔注射	老化雄性 C57BL/6 小鼠	创伤性脑损伤	脑	MDA ↓、ROS ↓、 CAT ↑、SOD ↑、GPx ↑	87
-	80						
-	160	腹腔注射	雄性 SD 大鼠	IRI	脑	MDA ↓、SOD ↓	56
<i>Laminaria japonica</i>	100	腹腔注射	雄性 C57BL/6J 小鼠	IRI	肾脏	MDA ↓、SOD ↑	57
<i>Undaria pinnatifida</i>	50	灌胃	雄性 SD 大鼠	完全弗氏佐 剂诱导关节炎	血清	CAT ↓、POD ↓、SOD ↓	2
<i>Undaria pinnatifida</i>	150						

注: MPTP: 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶; ISO: 异丙肾上腺素; DMN: 二甲基亚硝胺; CCl₄: 四氯化碳; LPO: 脂质过氧化物; APAP: 对乙酰氨基酚; STZ/HFD: 链脲佐菌素/高脂饮食; IRI: 缺血-再灌注损伤; 3-NT: 3-硝基酪氨酸; 8-OHdG: 8-羟基-2-脱氧鸟苷; ROS: 活性氧; SOD: 超氧化物歧化酶; CAT: 过氧化氢酶; GPx: 谷胱甘肽过氧化物酶; MDA: 丙二醛; GSH: 还原型谷胱甘肽; T-AOC: 总抗氧化能力; TBARS: 组织硫代巴比妥酸反应物; POD: 过氧化物酶; GR: 谷胱甘肽还原酶。

Note: MPTP: 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine; ISO: Isoprenaline; DMN: Dimethylnitrosamine; CCl₄: Carbon tetrachloride; LPO: Lipid Peroxide; APAP: Acetaminophen; STZ/HFD: Streptozotocin/high-fat diet; IRI: Ischemia-reperfusion injury; 3-NT: 3-Nitrotyrosine; 8-OHdG: 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine; ROS: Reactive oxygen species; SOD: Superoxide dismutase; CAT: Catalase; GPx: Glutathione peroxidase; MDA: Malondialdehyde; GSH: Reduced glutathione; T-AOC: Total antioxidant capacity; TBARS: Tissue thiobarbituric acid reactant; POD: Peroxidase; GR: Glutathione reductase.

然而,当细胞暴露于轻度的氧化应激时,Nrf2 在 Nrf2 的特定丝氨酸和(或)苏氨酸残基处被磷酸化,从 Keap1 上解离并转移到细胞核中^[88],与 ARE 结合并启动下游一系列保护基因如抗氧化蛋白和 II 相解毒酶等转录基因的表达,包括 HO-1、NQO1、谷胱甘肽 S-转移酶(GST)、GPx、SOD、CAT 等大量保护性基因的转录,增加细胞对 ROS 的清除能力^[89,90]。研究发现,岩藻多糖可通过上调 Nrf2 增强机体抗氧化功能(图 2)。岩藻多糖在二甲基亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化大鼠中显著增加 Nrf2 及其下游通路介质(包括 NQO1、HO-1、SOD 和 GST)的基因和蛋白质表达^[74]。尽管 H₂O₂ 处理上调了 IPEC-1 中 Nrf2 的表达,但岩藻多糖进一步增强了 Nrf2 的表达,并上

调了氧化应激状态下下游靶基因 NQO1、SOD1 和 GPx1 的基因表达水平,降低了 MDA 水平^[42]。另外,动物试验上的研究也发现,尽管乙酰氨基酚(APAP)孵育后诱导了小鼠肝细胞核 Nrf2 表达,岩藻多糖进一步增强细胞核中的 Nrf2 和总的 Nrf2 表达,并降低肝脏组织中 ROS 和 MDA 的水平,同时增加 SOD、CAT 的活性及 GSH 含量^[72]。研究还发现,岩藻多糖可通过激活人肺成纤维细胞中的 Nrf2 信号通路来防止氧化损伤^[91]。另外,Nrf2 一般仅存在于细胞的细胞质中,但是在岩藻多糖处理后的 HaCaT 细胞观察到 Nrf2 在细胞核中积累,表明岩藻多糖促进了 Nrf2 从细胞质向细胞核内的转运,并降低 Keap1 的细胞质稳定性^[41]。同样的结果也发现

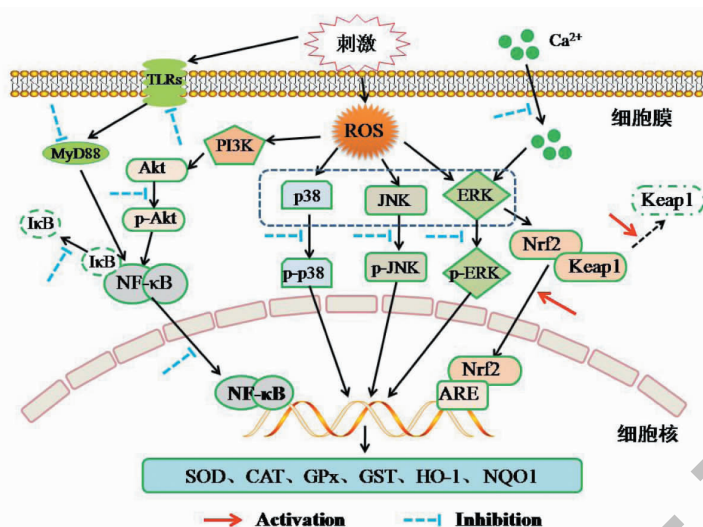


图2 岩藻多糖的抗氧化作用机理

Fig. 2 Antioxidant mechanism of fucoidan

于 IPEC-1 细胞的试验中,岩藻多糖促进了 Nrf2 在易受氧化应激的 IPEC-1 细胞中向核的转运^[42]。这就表明岩藻多糖不仅调控 Nrf2 的表达,同样也调控其从细胞质向细胞核的转移。综合以上结果表明,岩藻多糖的抗氧化生物学功能机制与 Nrf2 信号的激活有关。

2.3.2 MAPK 调控途径

氧化应激会激活 MAPK (p38、JNK 和 ERK) 途径,并引起 p38、ERK 和 JNK 的磷酸化水平的急剧增加,但岩藻多糖能够通过调控 MAPK 途径调控机体的抗氧化机能(图 2)。岩藻多糖处理成肌细胞 (C2C12 细胞) 后, p38、ERK 和 JNK 基因的表达降低,随着岩藻多糖浓度 (1、10 和 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的增加导致 C2C12 细胞中的 ERK 磷酸化和 JNK 磷酸化水平进一步降低,并调控 MnSOD、CAT、GPx 和 GR 的基因表达,从而并调控 ROS 的产生^[92]。另外,来自 *Undaria pinnatifida* 岩藻多糖抑制 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞中 MAPK (p38、ERK 和 JNK) 的磷酸化,从而阻断 ROS 的产生^[93]。此外,ERK 的特异性抑制剂可通过抑制 ERK 磷酸化来减少磷酸化 Nrf2 的积累,表明 Nrf2 是 ERK 的直接下游靶标。所以,ERK 信号传导可诱导 Nrf2 活化并调节细胞对氧化应激的保护作用。最近的一项研究报道也表明,岩藻多糖通过 ERK-Nrf2 信号介导的 HaCaT 细胞中 HO-1 和 SOD1 的表达降低了氧化应激^[41]。岩藻多糖还抑制了 ARPE-19 细胞中的 Ca^{2+} 注入和 ERK 磷

酸化表明其通过经由依赖 Ca^{2+} 的 ERK 信号传导途径使 ROS 生成正常化而保护 ARPE-19 细胞免受高葡萄糖诱导的氧化损伤^[94]。

2.3.3 TLR-NF- κ B 和 PI3K-Akt 调控途径

虽然没有直接的证据证明,但我们推测岩藻多糖可以通过 TLR-NF- κ B 途径发挥抗氧化功能(图 2)。TLR 是进化上保守的模式识别受体 (I 型跨膜蛋白),能够识别细菌,病毒和一些其他病原体中的代谢物^[95]。TLR 被多种刺激激活并触发细胞内信号转导,例如 NF- κ B。激活的 TLR 通过其受体域与通用细胞质衔接分子-髓样分化初级反应 88 (MyD88) 相关联。随后,激活的 MyD88 激活了能够诱导 I κ B 抑制剂磷酸化的 IKK 复合物。I κ B 的磷酸化释放出细胞质的 NF- κ B 二聚体使它们能够转移到细胞核中,从而调节多种相关基因的表达,如 SOD^[96]。研究发现,岩藻多糖预孵育抑制了巨噬细胞 MyD88 的蛋白表达水平,减少 IKK- α 、I κ B- α 、NF- κ B 亚基 p50 和 p65 的磷酸化以及 p50 和 p65 的核易位^[97]。Jang 等^[98]也证实岩藻多糖可以防止 LPS 刺激的 RAW 264.7 细胞中 I κ B- α 降解,随后抑制 NF- κ B 易位至细胞核中。此外,磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)-蛋白激酶 B (Akt) 也通过差异调节 NF- κ B 转录活性。在巨噬细胞中,PI3K-Akt 通过诱导其磷酸化使糖原合酶激酶- β (GSK- β) 失活,然后抑制 NF- κ B 的反式激活活性。岩藻多糖显著抑制了 Akt 的磷酸化和 p65 的活性。因此,岩藻多糖可抑制

PI3K-Akt 通路抑制 NF- κ B 的活性。

3 总结

岩藻多糖是海藻中广泛存在的重要硫酸化多糖之一,岩藻多糖结构和在多种海藻中的含量是复杂和不均匀的,然而,其生物活性非常具有吸引力。有充分证据表明,岩藻多糖对氧化应激表现出显著的抑制作用,其抗氧化活性依赖于多种细胞和分子机制,包括 Keap1-Nrf2-ARE 途径、MAPK 途径、TLR-NF- κ B 途径和 PI3K-Akt 途径等。然而,作为一种组分复杂的多糖混合物,岩藻多糖纯化工艺复杂且难度较大,加之混合物的异质性使其各组分作用机理难以研究和多糖分子太大而不能用作药物。然而,通过水解制备保留了抗氧化特性的低分子量岩藻多糖用作药物治疗慢性疾病是未来的研究方向。目前,基于岩藻多糖来源丰富和具有多种生物活性的特性,其可用作膳食补充剂或保健食品以延迟或预防多种慢性疾病,或在畜牧生产中用作促进畜禽生长和健康的饲料添加剂。

参考文献

- Cumashi A, 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: 541-552.
- Phull AR, et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of anti-arthritis, antioxidant efficacy of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 97: 468-480.
- Zayed A, et al. An immobilized perylene diimide derivative for fucoidan purification from a crude brown algae extract [J]. *Process Biochem*, 2018, 65: 233-238.
- Ponce NMA, et al. Fucoidans from the brown seaweed *Adenocystis utricularis*: extraction methods, antiviral activity and structural studies [J]. *Carbohydr Res*, 2003, 338: 153-165.
- Chizhov AO, et al. A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum* [J]. *Carbohydr Res*, 1999, 320: 108-119.
- Thomes P, et al. Cardioprotective activity of *Cladosiphon okamuranus* fucoidan against isoproterenol induced myocardial infarction in rats [J]. *Phytomedicine*, 2010, 18: 52-57.
- Albuquerque IRL, et al. Heterofucans from *Dictyota menstrualis* have anticoagulant activity [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2004, 37: 167-171.
- Kuznetsova TA, et al. Anticoagulant activity of fucoidan from brown algae *Fucus evanescens* of the Okhotsk Sea [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2003, 136: 471-473.
- Heeba GH, et al. Fucoidan ameliorates steatohepatitis and insulin resistance by suppressing oxidative stress and inflammatory cytokines in experimental non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2015, 40: 907-914.
- Bilan MI, et al. A highly regular fraction of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus distichus* L. [J]. *Carbohydr Res*, 2004, 339: 511-517.
- Bilan MI, et al. Structure of a fucoidan from the brown seaweed *Fucus serratus* L. [J]. *Carbohydr Res*, 2006, 341: 238-245.
- Li B, et al. Structural investigation of a fucoidan containing a fucose-free core from the brown seaweed, *Hizikia fusiforme* [J]. *Carbohydr Res*, 2006, 341: 1135-1146.
- Honya M, et al. Monthly changes in the content of fucans, their constituent sugars and sulphate in cultured *Laminaria japonica* [J]. *Hydrobiologia*, 1999, 398: 411-416.
- Anastyuk SD, et al. Structural analysis of a highly sulfated fucan from the brown alga *Laminaria cichorioides* by tandem MALDI and ESI mass spectrometry [J]. *Carbohydr Res*, 2010, 345: 2206-2212.
- Medeiros VP, et al. Sulfated galactofucan from *Lobophora variegata*: anticoagulant and anti-inflammatory properties [J]. *Biochemistry*, 2008, 73: 1018-1024.
- Silva TMA, et al. Partial characterization and anticoagulant activity of a heterofucan from the brown seaweed *Padina gymnospora* [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2005, 38: 523-533.
- Adhikaria U, et al. Structure and antiviral activity of sulfated fucans from *Stoechospermum marginatum* [J]. *Phytochemistry*, 2006, 67: 2474-2482.
- Duarte ME, et al. Structural studies on fucoidans from the brown seaweed *Sargassum stenophyllum* [J]. *Carbohydr Res*, 2001, 333(4): 281-293.
- Mak W, et al. Fucoidan from New Zealand *Undaria pinnatifida*: monthly variations and determination of antioxidant activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 95: 606-614.
- Ribeiro AC, et al. A sulfated alpha-L-fucan from sea cucumber [J]. *Carbohydr Res*, 1994, 255: 225-240.
- Alves AP, et al. Sulfated polysaccharides from the egg jelly layer are species specific inducers of acrosomal reaction in sperms of sea urchins [J]. *J Biol Chem*, 1997, 272: 6965-6971.
- Vilela-Silva AC, et al. Sulfated fucans from the egg jellies of the closely related sea urchins *Strongylocentrotus droe-*

- bachiensis and *Strongylocentrotus pallidus* ensure species-specific fertilization[J]. J Biol Chem,2002,277:379-387.
- 23 Nishino T, et al. Structure characterization of a new anticoagulant fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome* [J]. Carbohydr Res,1991,211:77-90.
- 24 Feng SZ, et al. Effect of monoasaccharide composition on antioxidant activity of algal polysaccharides [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2019,31:116-121.
- 25 Marais M, et al. A fucoidan fraction from *Ascophyllum nodosum* [J]. Carbohydr Res,2001,336:155-159.
- 26 Skriptsova AV, et al. Monthly changes in the content and monosaccharide composition of fucoidan from *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Phaeophyta) [J]. J Appl Phycol, 2009,22:79-86.
- 27 Lee JB, et al. Novel antiviral fucoidan from sporophyll of *Undaria pinnatifida* (Mekabu) [J]. Chem Pharm Bull, 2004, 52:1091-1094.
- 28 Hemmingson JA, et al. Structure and antiviral activity of the galactofucan sulfates extracted from *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta) [J]. J Appl Phycol,2006,18:185-193.
- 29 Sun XC, et al. Structure and anticoagulant activities comparison study of polysaccharides from different parts of *Lessonia nigrescence* [J]. Chin J Mar Drugs(中国海洋药物),2013, 32(6):1-7.
- 30 Yuan Y, et al. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity [J]. Carbohydr Polym, 2015, 129: 101-107.
- 31 Shan XD, et al. Effects of different extraction methods on the physicochemical properties of fucoidan [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物),2015,34(1):7-12.
- 32 Guo X, et al. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan [J]. J Agr Food Chem,2014,62:1088-1095.
- 33 Choi JI, et al. Preparation of low molecular weight fucoidan by gamma-irradiation and its anticancer activity [J]. Carbohydr Polym,2013,97:358-362.
- 34 Choi JI, et al. Effect of gamma irradiation on the structure of fucoidan [J]. Radiat Phys Chem,2014,100(1):54-58.
- 35 Micheline RS, et al. Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds [J]. J Appl Phycol, 2007,19:153-160.
- 36 Camara RB, et al. Heterofucans from the brown seaweed *Canirocarpus cervicornis* with anticoagulant and antioxidant activities [J]. Mar Drugs,2011,9:124-138.
- 37 Wang J, et al. Antioxidant activity of sulfated polysaccharide fractions extracted from *Laminaria japonica* [J]. Int J Biol Macromol,2008,42:127-132.
- 38 Wang J, 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.
- 39 Chale-Dzul J, et al. Protective effect of fucoidans from tropical seaweeds against oxidative stress in HepG2 cells [J]. J Appl Phycol,2017,29:2229-2238.
- 40 Gao YL, et al. Neuroprotective effect of fucoidan on H₂O₂-induced apoptosis in PC12 cells via activation of PI3K/Akt pathway [J]. Cell Mol Neurobiol,2012,32:523-529.
- 41 Ryu MJ, et al. Fucoidan reduces oxidative stress by regulating the gene expression of HO1 and SOD1 through the Nrf2/ERK signaling pathway in HaCaT cells [J]. Mol Med Rep, 2016,14:3255-3260.
- 42 Li Y, et al. Protective effects of fucoidan against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in porcine intestinal epithelial cells [J]. Animals,2019,9:1108.
- 43 Costa LS, et al. Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds [J]. Biomed Pharmacother, 2010,64:21-28.
- 44 Praveen NK, et al. Antioxidant and anti-inflammatory potential of the aqueous extract and polysaccharide fraction from brown marine macroalgae *Padina* sp. from Gulf of Mannar of Peninsular India [J]. J Coast Life Med,2013,1:19-20.
- 45 Zhang CY, et al. Antioxidant properties of polysaccharide from the brown seaweed *Sargassum graminifolium* (Turn.), and its effects on calcium oxalate crystallization [J]. Mar Drugs,2012,10:119-130.
- 46 Vijayavaskar P, et al. *In vitro* antioxidant properties of sulfated polysaccharide from brown marine algae *Sargassum tenerrimum* [J]. Asian Pac J Trop Dis,2012,2:S890-S896.
- 47 Imbs TI, et al. Antioxidant activity of fucose-containing sulfated polysaccharides obtained from *Fucus evanescens* by different extraction methods [J]. J Appl Phycol,2015,27(1):545-553.
- 48 Zhao X, et al. The study of antioxidant activities of fucoidan from *Laminaria japonica* [J]. High Technol Lett,2005,11:91-94.
- 49 Zhao X, et al. The inhibitory effects offucoidans from *Laminaria japonica* on oxidation of human low-density lipoproteins [J]. Adv Mater Res,2011,236-238:2067-2071.
- 50 Qi HM, et al. Antioxidant activity of different molecular

- weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) [J]. *J Appl Phycol*, 2005, 17: 527-534.
- 51 Hou Y, et al. Degradation of *Laminaria japonica* fucoidan by hydrogen peroxide and antioxidant activities of the degradation products of different molecular weights [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 87(1): 153-159.
- 52 Wang J, et al. Synthesized over sulphated, acetylated and benzoylated derivatives of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* and their potential antioxidant activity *in vitro* [J]. *Food Chem*, 2009, 114: 1285-1290.
- 53 Qi H, et al. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) *in vitro* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2005, 37(4): 195-199.
- 54 Zhou C, et al. Effect of ultrasonic degradation on *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides from *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta) [J]. *Food Sci Technol Int*, 2008, 14: 479-486.
- 55 Zhao X, et al. Study of antioxidant activities of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica* [J]. *J Appl Phycol*, 2008, 20: 431-436.
- 56 Che N, et al. Protective role of fucoidan in cerebral ischemia reperfusion injury through inhibition of MAPK signaling pathway [J]. *Biomol Ther*, 2017, 25: 272-278.
- 57 Chen J, et al. Low molecular weight fucoidan against renal ischemia-reperfusion injury via inhibition of the MAPK signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e56224.
- 58 Wang Y, et al. Antioxidant effects of fucoidan and its hydrolysates on oxidative damage mice induced by *D*-galactose [J]. *Modern Food Sci Technol* (现代食品科技), 2013, 29: 2378-2382.
- 59 Zhang Q, et al. *In vivo* antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) in aging mice [J]. *Pharmacol Res*, 2003, 48(2): 151-155.
- 60 Li XR, et al. Study on the effect of anti-aging and structure-function relationship of fucoidan from kelp [J]. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2015, 36(15): 117-121.
- 61 Wang JF, et al. Effects of fucoidan from *Cladosiphon okamuranusa* on lipids and peroxidative levels in hyperlipemia model rat [J]. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2003, 3: 28-32.
- 62 Peng YB, et al. Hypolipidemic effects of sulfated fucoidan from *Kjellmaniella crassifolia* through modulating the cholesterol and aliphatic metabolic pathways [J]. *J Funct Foods*, 2018, 51: 8-15.
- 63 Sudirman S, et al. Effect of fucoidan on anterior cruciate ligament transection and medial meniscectomy induced osteoarthritis in high-fat diet-induced obese rats [J]. *Nutrients*, 2018, 10: 686.
- 64 Hu SW, et al. Renoprotective effect of fucoidan from *Acaudina molpadioides* instreptozotocin/high fat diet-induced type 2 diabetic mice [J]. *J Funct Foods*, 2017, 31: 123-130.
- 65 Li DY, et al. Effects of fucoidan extracted from brown seaweed on lipid peroxidation in mice [J]. *Acta Nutr Sin* (营养学报), 2002, 24(4): 389-392.
- 66 Yu X, et al. Low molecular weight fucoidan alleviates cardiac dysfunction in diabetic Goto-Kakizakiris by reducing oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis [J]. *J Diabetes Res*, 2014, 2014: 1-13.
- 67 Mohankumar K, et al. Sulfated polysaccharides of *Turbinaria conoides* dose dependently mitigate oxidative stress by ameliorating antioxidants in isoproterenol induced myocardial injured rats: evidence from histopathological study [J]. *Egypt Heart J*, 2012, 64: 147-153.
- 68 Wang YC, et al. Protective effect of sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan against ethanol-induced gastric damage [J]. *Food Chem*, 2012, 133: 1414-1419.
- 69 Ruan YS, et al. The protective effects of fucoidin on the ethanol-induced gastric mucosal lesion in rats [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol* (中国食品学报), 2015, 15(1): 19-24.
- 70 Song MY, et al. Low molecular weight fucoidan ameliorating the chronic cisplatin-induced delayed gastrointestinal motility in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50: 4468-4478.
- 71 Meenakshi S, et al. Hepatoprotective effect of fucoidan isolated from the seaweed *Turbinaria decurrens* in ethanol intoxicated rats [J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 67: 367-372.
- 72 Wang YQ, et al. Fucoidan alleviates acetaminophen-induced hepatotoxicity via oxidative stress inhibition and Nrf2 translocation [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 4050.
- 73 Hong SW, et al. Protective effect of fucoidan against acetaminophen-induced liver injury [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35: 1099-1105.
- 74 Hong SW, et al. Suppression by fucoidan of liver fibrogenesis via the TGF- β /Smad pathway in protecting against oxidative stress [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2011, 75: 833-840.
- 75 Kang KS, et al. The effects of fucoidan extracts on CCl₄-induced liver injury [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31: 622-627.
- 76 Kang KS, et al. *Undaria pinnatifida* fucoidan extract protects against CCl₄-induced oxidative stress [J]. *Biotechnol Bioproc Eng*, 2008, 13: 168-173.
- 77 Liu S, et al. Studies on the hepatoprotective effect of fu-

- coidans from brown algae *Kjellmaniella crassifolia*[J]. Carbohydr Polym,2018,193:298-306.
- 78 Wang QK, et al. Structural characterisation of algae *Costaria costata* fucoidan and its effects on CCl₄-induced liver injury [J]. Carbohydr Polym,2014,107:247-254.
- 79 Omar HEM, et al. The immunomodulating and antioxidant activity of fucoidan on the splenic tissue of rats treated with cyclosporine A[J]. J Basic Appl Zool,2013,66:243-254.
- 80 Veena CK, et al. Renal peroxidative changes mediated by oxalate; the protective role of fucoidan[J]. Life Sci,2006,79:1789-1795.
- 81 Veena CK, et al. Mitochondrial dysfunction in an animal model of hyperoxaluria; a prophylactic approach with fucoidan[J]. Eur J Pharmacol,2008,579:330-336.
- 82 Veena CK, et al. Effect of sulphated polysaccharides on erythrocyte changes due to oxidative and nitrosative stress in experimental hyperoxaluria[J]. Hum Exp Toxicol,2007,26:923-932.
- 83 Wang J, et al. Effects and mechanism of low molecular weight fucoidan in mitigating the peroxidative and renal damage induced by adenine[J]. Carbohydr Polym,2011,84(1):417-423.
- 84 Zhang L, et al. Fucoidan protects dopaminergic neurons by enhancing the mitochondrial function in a rotenone-induced rat model of Parkinson's disease[J]. Aging Dis,2018,9:590-604.
- 85 Luo D, et al. Fucoidan protects against dopaminergic neuron death *in vivo* and *in vitro*[J]. Eur J Pharmacol,2009,617(1-3):33-40.
- 86 Gao YL, et al. Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, improves cognitive impairment induced by infusion of A β peptide in rats [J]. Environ Toxicol Pharmacol,2012,33:304-311.
- 87 Wang T, et al. Low-molecular-weight fucoidan attenuates mitochondrial dysfunction and improves neurological outcome after traumatic brain injury in aged mice; involvement of Sirt3 [J]. Cell Mol Neurobiol,2016,36:1257-1268.
- 88 Wakabayashi N, et al. Protection against electrophile and oxidant stress by induction of the phase 2 response; Fate of cysteines of the Keap1 sensor modified by inducers [J]. Proc Natl Acad Sci,2004,101:2040-2045.
- 89 Vriend J, et al. The Keap1-Nrf2-antioxidant response element pathway; a review of its regulation by melatonin and the proteasome[J]. Mol Cell Endocrinol,2015,401:213-220.
- 90 Gum SI, et al. Recent updates on acetaminophen hepatotoxicity; the role of nrf2 in hepatoprotection [J]. Toxicol Res,2013,29:165-172.
- 91 Roy Chowdhury S, et al. Bacterial fucose-rich polysaccharide stabilizes MAPK-mediated Nrf2/Keap1 signaling by directly scavenging reactive oxygen species during hydrogen peroxide-induced apoptosis of human lung fibroblast cells [J]. PLoS One,2014,9:113663.
- 92 Kim KJ, et al. Low-molecular-weight fucoidan regulates myogenic differentiation through the mitogen-activated protein kinase pathway in C2C12 cells [J]. Brit J Nutr,2011,106:1836-1844.
- 93 Kim KJ, et al. Low molecular weight fucoidan from the sporophyll of *Undaria pinnatifida* suppresses inflammation by promoting the inhibition of mitogen-activated protein kinases and oxidative stress in RAW264.7 cells [J]. Fitoterapia,2012,83:1628-1635.
- 94 Li XX, et al. Fucoidan protects ARPE-19 cells from oxidative stress via normalization of reactive oxygen species generation through the Ca²⁺-dependent ERK signaling pathway[J]. Mol Med Rep,2015,11:3746-3752.
- 95 Li J, et al. Enhanced inflammatory responses to toll-like receptor 2/4 stimulation in type 1 diabetic coronary artery endothelial cells; the effect of insulin[J]. Cardiovasc Diabetol,2010,9(1):90.
- 96 Tao R, et al. NF κ B and AP-1 differentially contribute to the induction of Mn-SOD and eNOS during the development of oxidant tolerance[J]. FASEB J,2005,19(13):1908.
- 97 Asanka Sanjeeva KK, et al. Fucoidan isolated from *Padina commersonii* inhibit LPS-induced inflammation in macrophages blocking TLR/NF- κ B signal pathway [J]. Carbohydr Polym,2019,224:115195.
- 98 Jang YS, et al. Fucoidan prevents LPS-induced production of nitric oxide and prostaglandin E2 by inhibiting MAPK-mediated signal pathways in RAW 264.7 macrophage cells [J]. J Immunol,2016:196.