

岩藻多糖在制备、结构特征及心脑血管保护方面的研究进展

季宇彬¹, 尹嘉玉^{1,2}, 杨自勋^{1,2}, 侯蓬勃^{1,2},
王进², 林萍², 宋晓童^{1,2}, 汲晨锋¹, 郭守东^{2*}

¹哈尔滨商业大学药学院, 药物工程技术研究中心, 哈尔滨 150076;

²潍坊医学院, 药学院, 创新药物研发中心, 脂代谢与动脉粥样硬化研究室, 潍坊 261053

摘要:岩藻多糖是一种复杂的硫酸化多糖, 富含 L-岩藻糖和硫酸基团, 可从褐藻及棘皮动物中获取。因其具有多种生物学活性而被广泛应用于医药和食品领域。本文阐述了岩藻多糖制备方法、主要的结构特征, 并从抗血栓、抗凝血、抗炎、降血脂、免疫调节、抗氧化等方面阐述岩藻多糖在心脑血管保护方面的研究进展。

关键词:岩藻多糖; 制备; 结构特征; 心脑血管保护; PCSK9

中图分类号: R979.9

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019) Suppl-0194-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.S.028

Preparation, structural characteristics of fucoidans and their cardio-cerebrovascular protective effects

Ji Yu-bin¹, Yin Jia-yu^{1,2}, Yang Zi-xun^{1,2}, Hou Peng-bo^{1,2}, Wang Jin²,
Lin Ping², Song Xiao-tong^{1,2}, Ji Chen-feng¹, Guo Shou-dong^{2*}

¹College of Pharmacy Engineering Research Center for Medicine, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

²Institute of Lipid Metabolism and Atherosclerosis, Innovative Drug Research Centre, College of pharmacy, Weifang Medical University, Weifang 261061, China

Abstract: Fucoidans were heterogeneous sulfated polysaccharides with abundant of fucose and sulfate groups, they can be extracted from brown algae and marine invertebrates. They were widely used in the fields of medicine and food due to their numerous biological functions. The purpose of this paper is to summarize the preparation and structural characteristics of fucoidans, and their potential protective effects in cardio-cerebrovascular diseases based on their biological functions such as antithrombosis, anticoagulation, antiinflammation, lipid-lowering, immunoregulation and antioxidation.

Key words: fucoidan; preparation; structural characteristic; biological function; PCSK9

岩藻多糖(fucoidan)又名褐藻多糖, 是一种高度复杂的硫酸化多糖, 可从褐藻细胞外基质及海参体壁中提取^[1]。岩藻多糖主要由 L-岩藻糖和硫酸基团构成, 还含有少量的半乳糖、甘露糖、木糖、阿拉伯糖和糖醛酸等。研究发现, 岩藻多糖的结构复杂, 且其结构随着褐藻的种类、收获时期、部位、产地和提取方法的不同而存在巨大的差异。更为重要的是, 岩藻多糖的分子量大小、单糖组成、硫酸化位点、糖苷键连接方式及分支度大大增加了岩藻多糖结构的

复杂性^[2,3]。多糖的结构是其活性的源泉, 复杂的结构造就了岩藻多糖多种多样的生物学活性: 包括抗肿瘤、抗血栓、抗凝血、抗病毒、抗炎、免疫调节、降血脂、修复骨损伤和抗氧化等^[4]。鉴于岩藻多糖在海洋天然产物研究中扮演的重要角色, 本文就岩藻多糖的制备、结构特征及心脑血管保护方面进行综述, 为其进一步的开发利用提供参考。

1 岩藻多糖的制备

1.1 岩藻多糖的提取方法

岩藻多糖是一种水溶性的杂聚多糖, 传统的提取方法常采用水提法、酸提法和碱提法。水提法是利用岩藻多糖易溶于热水, 而不溶于乙醇等有机溶剂的性质, 来获得岩藻多糖粗品; 酸提法是利用岩藻

收稿日期: 2019-05-14 接受日期: 2019-05-28

基金项目: 国家自然科学基金(81770463, 31300639); 潍坊医学院科研启动基金(021824)

* 通信作者 Tel: 86-536-8462014; E-mail: SD-GUO@hotmail.com

多糖易溶于稀盐酸,而褐藻酸在 pH 较低时水溶性差的性质,来除去褐藻酸进而获得岩藻多糖粗品; CaCl_2 沉淀法则是利用 CaCl_2 能与褐藻酸反应生成沉淀,从而达到纯化岩藻多糖的目的。工业上常用碱提法来规模制备岩藻多糖粗品,但存在消耗大量的酸和碱、污染环境等缺点^[5]。

近年,随着新技术的不断应用,人们开始采用复合酶法、微波辅助法和超声法等新技术来获取岩藻多糖。复合酶法是利用纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶等对褐藻的细胞壁进行裂解,改变细胞壁的通透性,从而提高胞内多糖的溶出率。研究发现,来自海洋细菌或海洋软体动物的酶有更好的提取和降解岩藻多糖的能力。Silchenko 等^[6]发现来源于海洋细菌的酶可水解枯墨角藻(*Fucus evanescens*)和墨角藻(*Fucus vesiculosus*)来源的岩藻多糖,而该水解酶并不能应用于拟菊苣海带(*Saccharina cichorioides*)中的岩藻多糖。微波辅助提取法是利用微波射线辐射与溶剂并透过细胞壁到达细胞内部,由于溶剂及细胞液吸收微波能,细胞内部温度升高、压力变大,细胞壁破裂,有效成分释放;但由于微波具有较强的机械剪切作用,长时间的作用会使大分子多糖断裂。例如, Yang 等^[7]发现微波辅助提取法可显著降低裙带菜(*Undaria pinnatifida*)岩藻多糖的体外抗癌活性。值得注意的是, Yuan 等^[8]利用微波辅助提取技术提取褐藻多糖发现,当提取温度为 90 °C 时,岩藻多糖主要的单糖是岩藻糖,而在 150 °C 时,主要的单糖是葡萄糖酸。因此,提取温度对岩藻多糖的单糖构成有重要影响。此外,岩藻多糖的分子量和硫酸盐含量都随着提取温度的降低而增加。由此可见,提取条件的不同对岩藻多糖的结构有着不同程度的影响,从而影响其生物学活性。超声波辅助提取法是利用超声波具有较强的剪切作用,通过适当的机械作用破碎细胞,有利于多糖的溶出,从而提高效率,但其较强机械剪切作用也会使大分子多糖断裂。除上述方法外, Xing 等^[9]研究了不同萃取剂(壳聚糖、壳聚糖季铵盐、十六烷基三甲基溴化铵)对岩藻多糖产率及含量的影响。结果表明,壳聚糖可作为一种较为理想的萃取剂,来提取海带(*Laminaria japonica*)的岩藻多糖。

1.2 岩藻多糖的纯化

纯化岩藻多糖时,常采用离子交换色谱法结合分子筛层析法。离子交换色谱法是根据多糖携带的电荷不同与离子交换剂结合强度的差异,通过改变

缓冲液的离子强度分离岩藻聚糖的方法;该法通常选择氯化钠溶液作为洗脱剂。而分子筛层析法则是按照岩藻多糖分子量的大小将多糖纯化的方法。Cong 等^[10]利用了氯化钙沉淀法除去褐藻酸并结合 DEAE-Cellulose 离子交换层析柱法和 Sephacryl S-300 凝胶柱层析对羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)中的岩藻多糖进行了纯化得到三个组分。Chang 等^[11]为纯化海参(*Holothuria tubulosa*)中的岩藻多糖采用离子交换柱结合 ÄKTA 纯化系统,0~2 mol/L 氯化钠线性洗脱,并结合苯酚硫酸法收集多糖样品;粗品经浓缩,透析后,用 Sephacryl S-500 凝胶色谱柱进一步的分离纯化海参岩藻多糖。Yu 等^[12]采用了离子交换层析柱结合 ÄKTA™ UPC100 系统,0~2 mol/L 氯化钠溶液洗脱,收集 1.2~1.5 mol/L 氯化钠所洗脱下的岩藻多糖,再用 0.2 mol/L 碳酸氢铵经 Sephacryl S-500 凝胶色谱柱继续洗脱,收集,浓缩,冷冻干燥,得到纯度较高的梅花参(*Thelenota ananas*)岩藻多糖。

2 岩藻多糖主要的结构特征

岩藻多糖是结构复杂的大分子多糖,其主要成分是 L-岩藻糖和硫酸基团,糖苷键的连结方式主要是 1→3 或 1→4,也可能是 1→3 和 1→4 交替连接,硫酸基团主要结合在糖基(主要是岩藻糖,还有甘露糖、木糖和半乳糖)的 C4 位点,但也可结合在 C2、C3 位点,岩藻糖含量约为 30~80%^[2,12]。岩藻多糖的结构和组成随其种类,收获季节与地区,提取方法的不同而异,这对岩藻多糖的生物活性也有重要的影响。Yuguchi 等^[3]研究了马尾藻(*Sargassum crassifolium*)和南极团扇藻(*Padina australis*)的两种岩藻多糖结构和构象,他们的主要结构是 α -(1→4) 和 α -(1→3) 连接的 L-岩藻糖构成,硫酸基团连接在 C2 或 C4 位点上,如图 1。Sc-Fuc 支链是由(1→4)连接的半乳糖残基构成,分支点在岩藻糖的 C4 位点上,而 Pa-Fuc 分支是由硫酸化的半乳糖-岩藻糖二糖和硫酸化的半乳糖单糖通过(1→3 和 1→4)连接在主链上,见图 1。由此可见,这两种岩藻多糖主链骨架虽有类似部分,但支链部分却有较大差异。

Chang 等^[10]通过酶降解、甲基化分析、NMR 等方法研究了来自海参(*Holothuria tubulosa*)岩藻多糖(Ht-Fuc)的结构,其结构较海带中的岩藻多糖简单且呈线性重复,硫酸基团的含量为 31.2%,平均分子量 M_w 为 1567.6 KDa,并由 $[\rightarrow 3-\alpha\text{-L-Fucp}2(\text{OSO}_3^-)-1\rightarrow 3-\alpha\text{-L-Fucp}2,4(\text{OSO}_3^-)-1\rightarrow 3-\alpha-$

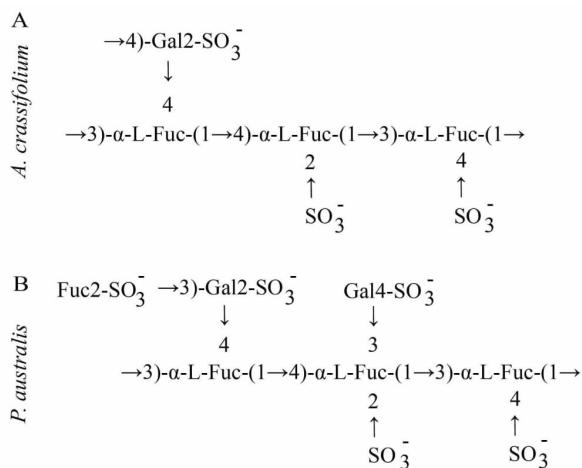


图1 岩藻多糖的特征结构

Fig. 1 Structural characteristics of the fucoidan

注:A,来源于马尾藻(*Argassum crassifolium*);B,来源于南极团扇藻(*Padina australis*)。Note:A, fucoidan from *A. crassifolium*; B, fucoidan from *P. australis*.

L-Fucp-1 \rightarrow 3- α -l-Fucp2(OSO₃⁻)-1 \rightarrow]重复单元组成。进一步的研究发现,经0.15 mol/L的NaCl溶液洗脱的(25℃,pH=7.4)Ht-Fuc,其分子改变为无规则卷曲构象。而来源于三种不同海参(*A. japonicus*, *I. badionotus*, *A. molpadioides*)的岩藻聚糖结构又各有差异,如图2所示^[13]。因此,海参岩藻多糖的结构与其种属有较大的关系。多糖的多级结构与其活性关系密切,例如,Surenjav等^[14]发现(1 \rightarrow 3)- β -D-glucan改变成三级螺旋构象后比单柔性连接具有更好的抗癌活性。因此,建立起更精确的功能结构关系,需要从更高层次上剖析岩藻多糖的结构特征。

3 心脑血管保护作用

心脑血管疾病是严重威胁当今人类生命健康的疾病之一,已成为世界大多数国家居民死亡的主要原因^[15,16]。这类疾病由炎症、高血压、吸烟饮酒、糖尿病、血脂异常、代谢综合征、肥胖、免疫功能失常等多种原因所引发,表现为大脑、心脏及全身组织发生缺血性或出血性病变。近年来,岩藻多糖在治疗和预防心脑血管疾病方面备受关注,它具有抗炎、降血糖、降血脂、抗血栓、抗凝血、抗氧化、免疫调节等多种活性,我们推测其可通过多种途径达到治疗心脑血管疾病的效果。

3.1 抗血栓和抗凝血作用

凝血功能亢进(组织因子、凝血酶)是致动脉粥样硬化的危险因素之一。许多研究已证实岩藻多糖具有良好的抗血栓、抗凝血活性^[17-20]。岩藻多糖可

作为一种天然的抗栓、抗凝剂,不仅能达到抗血栓、抗凝血的作用,还能减少出血的风险。研究表明,岩藻多糖能与丝氨酸蛋白酶抑制剂(抗凝血酶、肝素辅助因子II)相互作用,同时也能与促凝血和凝血蛋白酶结合(凝血酶IIa、因子Xa)形成一个三元复合物(Fuc-丝氨酸蛋白酶抑制剂-蛋白酶),从而抑制凝血酶和血栓蛋白酶。岩藻多糖可作为媒介将丝氨酸蛋白酶抑制剂和蛋白酶结合在一起,或者通过变构作用使得丝氨酸蛋白酶抑制剂构象发生改变^[21]。

岩藻多糖的抗血栓和抗凝血活性主要与其分子量的大小、硫酸基团含量及作用模式相关。研究发现,结构相似的岩藻多糖,分子量大的表现出更高的抗凝血活性;硫酸化水平大于1的岩藻多糖,也表现出较高的抗凝血活性^[22-24]。Chandia等^[25]发现岩藻糖C4位点上结合硫酸基团比在C2位点上表现出更好的抗凝血活性。此外,岩藻多糖C2和C4位点均被硫酸化时,抗凝血活性显著增加^[26]。岩藻多糖虽然有望成为抗血栓、抗凝血剂,但由于其结构较为复杂,深入的构-效关系尚需阐明。

3.2 抗炎活性

心脑血管疾病与长期慢性炎症以及急性炎症密不可分。因此,抗炎治疗可作为防治动脉粥样硬化的有效途径。炎症反应常伴随着炎症介质的释放增加(如NO⁻、氧自由基)及促炎症因子的表达上升(如白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α)。其中,NO的产生是导致炎症、感染、缺血性和创伤性损伤的一个重要因素^[29-32]。Park等研究发现,岩藻多糖能显著抑制LPS诱导的NO和前列腺素E2的产生,同时也抑制NO合成酶和环氧合酶-2的表达。该研究发现,岩藻多糖通过调节NF- κ B、ERK、MAPK、JNK(氨基端激酶)、AKT等相关蛋白酶与通路共同发挥其抗炎特性^[33]。我们尚未发表的数据也表明,岩藻多糖可通过MAPK/NF- κ B信号通路抑制脂多糖(LPS)诱导的急性肝损伤和肺损伤。Wang等研究发现褐藻岩藻多糖可减轻肥胖小鼠的炎症反应和信号传导,并调节血清和肝脏炎症细胞因子的mRNA表达^[34]。

3.3 降血脂

脂代谢异常是导致动脉粥样硬化等心脑血管疾病的主要诱因^[35,36]。Hu等^[37]研究表明,血清总胆固醇(total cholesterol,TC)水平的升高、血清甘油三酯(triglycerides,TG)水平升高是心血管病的危险因素。而多糖具有潜在的促胆固醇逆向转运功能。值

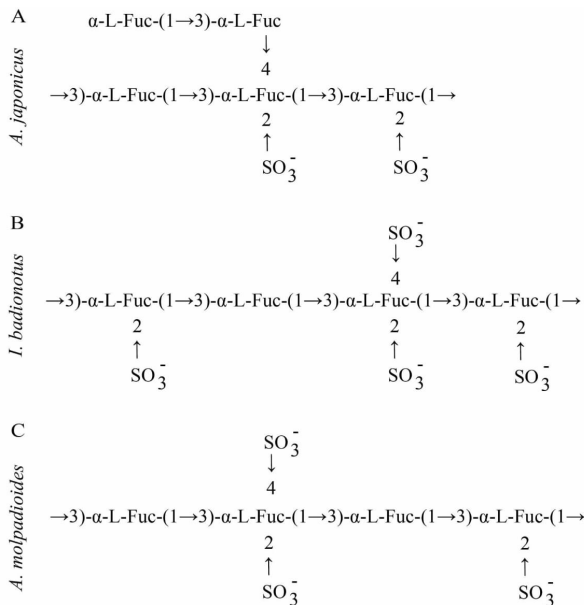


图2 三种不同海参(*A. japonicus*, *I. badionotus*, *A. molpadioides*)的岩藻多糖特征结构

Fig. 2 Structural characteristics of the fucoidans from three different species of sea cucumber (*A. japonicus*, *I. badionotus*, *A. molpadioides*)

得关注的是,我们新近发表的论文表明,岩藻聚糖可通过促进胆固醇逆向转运相关基因和蛋白的表达,特别是在肠道摄取和外排胆固醇方面发挥着重要的作用^[38,39]。更为重要的是,岩藻聚糖具有潜在的抑制 PCSK9 的作用^[38,39]。另有研究发现,通过增加脂蛋白脂肪酶(lipoprotein, LPL)、肝脂肪酶(hepatic lipase, HL)、胆固醇酰基转移酶活性,岩藻多糖可以显著的降低血清 TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein-cholesterol, LDL-C)水平,同时提升高密度脂蛋白(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)水平。此外,岩藻多糖不仅能够加速血清总脂质水平的降低,还能抑制内源性脂质的合成^[40]。Jinhee Park 和 Hui Xu 等发现岩藻多糖能够抑制成熟的固醇调节元件结合蛋白(SREBP)在肝脏中的表达,从而调节合成胆固醇与甘油三酯关键酶的表达及 LDL 受体的表达^[41,42]。也有研究表明,岩藻多糖能增加红细胞表面负电荷数量,从而增强相互间的排斥力,故能阻抗红细胞之间和红细胞与血管壁之间的粘附,达到降血脂效果。除此之外,岩藻多糖可以调控 CD36、过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)、胆固醇-7 α 羟化酶(CYP7A1)、腺苷三磷酸结合盒转运体 A1(ABCA1)、乙酰辅酶 A 的表达,从而抑制脂肪酸的转运^[38,39,43,44]。由此可以看出,

岩藻多糖产生降血脂活力是通过多种途径共同来完成的。最新的研究表明,岩藻多糖的硫酸化作用模式对其降血脂活性影响深远。Li 等研究发现 C4 位发生硫酸化的海参岩藻多糖(fuc-Pg),比 C2 位发生硫酸化的海参岩藻多糖(fuc-Ib)表现出更好的降血脂活力。这在一定程度上加深了对于岩藻多糖构-效关系的理解^[44]。

3.4 免疫调节

心脑血管疾病的基础病变“动脉粥样硬化”是一个由各种免疫细胞启动的炎症反应过程。参与其中的有固有免疫中的单核细胞、树突细胞、巨噬细胞,也有适应性免疫中的 T 细胞和 B 细胞,还包括其中的细胞因子。研究发现,通过促进树突细胞的成熟、自然杀伤细胞和 T 细胞的激活,岩藻多糖能显著增强机体的免疫应答^[45-47]。进一步的研究发现,自然杀伤细胞(NK)在细胞介导的免疫反应和肿瘤细胞的消除扮演着重要的作用。Zhang 等证明了巨藻岩藻多糖能够激活并促进 NK 细胞的成熟,从而增加其对 YAC-1 细胞的细胞毒性。此外,体内实验表明,岩藻多糖能够通过增加小鼠脾脏内辅助 T 细胞 1(Th1)、Tc1 及 γ -干扰素相关转录因子的表达,以及降低 IFN- γ 和 TNF- α 的血清水平来调节 T 细胞的免疫反应^[48]。因此,这也成为其发挥保护心脑血管作用的另一种机制。

3.5 其他

动脉粥样硬化的形成与血脂中的脂蛋白有关,尤其是经氧自由基氧化的氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL),其可对血管内皮细胞造成损伤,从而引起血小板凝集以及胆固醇沉积,形成动脉粥样硬化。岩藻多糖是天然的抗氧化剂,不仅可以清除细胞代谢过程中产生的自由基,而且可以修复自由基反应引起的细胞损伤^[49]。另一方面,根据动脉粥样硬化发病研究报告显示,肠道菌群的变化及失调与动脉粥样硬化的发生存在密切联系^[50-52]。而岩藻多糖能够显著增加肠道益生菌含量,降低肠道有害菌的含量,以维持肠道微生态的平衡^[53-56]。

4 结语

综上所述,岩藻多糖在防治心脑血管疾病方面具有潜在药用价值。可以预测人们对于岩藻多糖的需求量会不断增加。目前,已有多种方法从褐藻和一些海洋棘皮动物中提取岩藻多糖,但生产岩藻多糖的效率有待提高。为不断的简化工艺流程,降低成本、提高岩藻多糖产量,未来应多途径地探索最佳

的提取条件,创建新的分离纯化体系,并将其应用于工业化生产。如,利用海洋微生物自身存在的酶或代谢物对褐藻多糖进行前处理。

岩藻多糖的结构极其复杂,现有的结构分析方法还未能彻底阐明其精细结构。尽管岩藻多糖的多种药理学活性已得到证实,但其构-效关系的研究仍不透彻。因此,在未来的研究中应注重剖析岩藻多糖的结构特征,并确定其构-效关系。由于岩藻多糖分子量大,口服利用率低等缺点,低分子量的岩藻多糖已成为近年的研究热点。其次,不同的种类、不同收获时期、部位、产地和不同提取方法获取的岩藻多糖,其结构也有较大差异。因此,在后续的药物研究及开发中,应更加注重视建立起一套标准化的原料采集和岩藻聚糖制备工艺。

参考文献

- Pomin VH, et al. Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans [J]. *Glycobiology*, 2008, 18: 1016-1027.
- Yu L, et al. Enzymatic preparation and structural determination of oligosaccharides derived from sea cucumber (*Acaudina molpadioides*) fucoidan [J]. *Food Chem*, 2013, 139: 702-709.
- Yuguchi Y, 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: 69-78.
- Farzaneh A, et al. Fucoidan and cancer: a multifunctional molecule with anti-tumor potential [J]. *Marine Drugs*, 2015, 13: 2327-2346.
- Elena B, et al. Simultaneous extraction and depolymerization of fucoidan from *Sargassum muticum* in aqueous media [J]. *Marine Drugs*, 2013, 11: 4612-4627.
- Silchenko A, et al. Hydrolysis of fucoidan by fucoidanase isolated from the marine bacterium, formosa algae [J]. *Marine Drugs*, 2013, 11: 2413-2430.
- Yang C, et al. Effects of molecular weight and hydrolysis conditions on anticancer activity of fucoidans from sporophyll of *Undaria pinnatifida* [J]. *Interl Jour Bio Macro*, 2008, 43: 430-437.
- Yuan Y, et al. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity [J]. *Carbohydr Poly*, 2015, 129: 101-107.
- Xing R, et al. Extraction and separation of fucoidan from *Laminaria japonica* with chitosan as extractant [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013: 193689.
- Cong Q, et al. Structural characterization and effect on anti-angiogenic activity of a fucoidan from *Sargassum fusiforme* [J]. *Carbohydr Poly*, 2016, 136: 899-907.
- Chang Y, et al. Primary structure and chain conformation of fucoidan extracted from sea cucumber *Holothuria tubulosa* [J]. *Carbohydr Poly*, 2016, 136: 1091-1097.
- Yu L, et al. Structure elucidation of fucoidan composed of a novel tetrafucose repeating unit from sea cucumber *Thelenota ananas* [J]. *Food Chem*, 2014, 146: 113-119.
- Xu X, et al. Chain conformational and physicochemical properties of fucoidans from sea cucumber [J]. *Carbohydr Poly*, 2016, 152: 433-440.
- Surenjav U, et al. Effects of molecular structure on antitumor activities of (1 → 3)-β-D-glucans from different *Lentinus edodes* [J]. *Carbohydr Poly*, 2006, 63: 97-104.
- World Health Organization. The 10 leading causes of death by broad income group: report of WHO scientific group [R]. Geneva: WHO, 2018.
- World Health Organization. Deaths from coronary heart disease: report of WHO scientific group [R]. Geneva: WHO, 2006.
- Min SK, et al. Algal fucoidan, unlike heparin, has thrombolytic activity in a murine arterial thrombosis model [J]. *Blood Coag & Fib*, 2012, 23: 359-366.
- Dore CMPG, et al. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects [J]. *Carbohydr Poly*, 2013, 91: 467-475.
- Jin W, Zhang Q, et al. A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans [J]. *Carbohydr Poly*, 2013, 91(1): 1-6.
- Faggio C, et al. Potential use of polysaccharides from the brown alga *Undaria pinnatifida* as anticoagulants [J]. *Bra Arch Bio & Tech*, 2015, 3: 759-70.
- Pomin VH. Fucanomics and galactanomics: current status in drug discovery, mechanisms of action and role of the well-defined structures [J]. *BBA-General Subjects*, 2012, 1820: 1971-1979.
- Kim ES, Lee JS, Lee HG. Nanoencapsulation of red ginseng extracts using chitosan with polyglutamic acid or fucoidan for improving antithrombotic activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64: 4765-4771.
- Ozaltin K, et al. A new route of fucoidan immobilization on low density polyethylene and its blood compatibility and anticoagulation activity [J]. *Inte J Mole Sci*, 2016, 17: 908.
- Zhao X, et al. Antithrombotic activity of oral administered low molecular weight fucoidan from *Laminaria Japonica* [J].

- Thrombosis Res,2016,144:46-52.
- 25 Chandia NP, et al. Characterization of a fucoidan from *Lessonia vadosa* (Phaeophyta) and its anticoagulant and elicitor properties [J]. Inter J Bio Macro,2008,42:235-240.
- 26 Chen S, et al. Comparison of structures and anticoagulant activities of fucosylated chondroitin sulfates from different sea cucumbers [J]. Carbohy Poly,2011,83:688-696.
- 27 Zhang Z, et al. Structure-activity relationship of the pro- and anticoagulant effects of *Fucus vesiculosus* fucoidan [J]. Thrombosis and Haemostasis,2013,111:429-437.
- 28 Zhang Z, et al. The Screening of complex fucoidans from four brown algae species as procoagulant agents [J]. Carbohy Poly,2015,115:677-685.
- 29 Jiang Z, et al. The potent activity of sulfated polysaccharide, ascophyllan, isolated from *Ascophyllum nodosum*, to induce nitric oxide and cytokine production from mouse macrophage RAW264. 7 cells; comparison between ascophyllan and fucoidan [J]. Nitric Oxide,2011,25:407-415.
- 30 Block ML, et al. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms [J]. Nat Rev Neuro,2007,8(1):57-69.
- 31 Lee YE, et al. Marine polysaccharides; therapeutic efficacy and biomedical applications [J]. Arch Pharm Res,2017,40:1006-1020.
- 32 Li C, et al. Fucoidan, a sulfated polysaccharide from brown algae, against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats via regulating the inflammation response [J]. Food Cheml Toxi,2011,49:2090-2095.
- 33 Park HY, et al. Anti-inflammatory effects of fucoidan through inhibition of NF- κ B, MAPK and Akt activation in lipopolysaccharide-induced BV2 microglia cells [J]. Food chem toxi,2011,49:1750-1752.
- 34 Wang J, et al. Fucoidan from sea cucumber may improve hepatic inflammatory response and insulin resistance in mice [J]. Inter immunopharm,2016,31:15-23.
- 35 Guo S, et al. Exogenous supplement of *N*-acetylneuraminic acid ameliorates atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Atherosclerosis,2016,251:183-191.
- 36 Hou P, et al. Exogenous supplement of *N*-acetylneuraminic acid improves macrophage reverse cholesterol transport in apolipoprotein E-deficient mice [J]. Crit Rev Clinl Lab Sci,2016,53:370-378.
- 37 Hu S, et al. Structural characterisation and cholesterol efflux improving capacity of the novel polysaccharides from *Cordyceps militaris* [J]. Inter J Bio Macro,2019,131:264-272.
- 38 Yang Z, et al. Fucoidan A2 from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* lowers lipid by improving reverse cholesterol transport in C57BL/6J mice fed a high-fat diet [J]. J Agri Food Chem,2019,67:5782-5791.
- 39 Yang Z, et al. The fucoidan A3 from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances RCT-related genes expression in hyperlipidemic C57BL/6J mice [J]. Inter J Bio Macro,2019,134:759-769.
- 40 Huang L, et al. Hypolipidemic effect of fucoidan from *Laminaria japonica* in hyperlipidemic rats [J]. Pharm bio,2010,48(4):422-426.
- 41 Park J, et al. Fucoidan improves serum lipid levels and atherosclerosis through hepatic SREBP-2-mediated regulation [J]. J Pharm Sci,2016,131:81-92.
- 42 Xu H, et al. Fucoidan from the sea cucumber *Acaudina molpadioides* exhibits anti-adipogenic activity by modulating the Wnt/ β -catenin pathway and down-regulating the SREBP-1c expression [J]. Food & Function,2014,5:1547.
- 43 Li S, et al. 4- O -Sulfation in sea cucumber fucoidans contribute to reversing dyslipidaemia caused by HFD [J]. Interl J Bio Macro,2017,99:96-104.
- 44 Yu XH, et al. Foam cells in atherosclerosis [J]. Clinica Chimica Acta,2013,424:245-252.
- 45 Jin JO, et al. Fucoidan can function as an adjuvant *in vivo* to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T-cell immune responses [J]. PLoS One,2014,9:e99396.
- 46 Yang M, et al. Fucoidan stimulation induces a functional maturation of human monocyte-derived dendritic cells [J]. Inter Immunopharm,2008,8:1754-760.
- 47 Jin JO, et al. Ligand of scavenger receptor class A indirectly induces maturation of human blood dendritic cells via production of tumor necrosis factor- α [J]. Blood,2009,113:5839-5847.
- 48 Wei Z, et al. Fucoidan from *Macrocystis pyrifera* has powerful, immune-modulatory effects compared to three, other fucoidans [J]. Marine Drugs,2015,13:1084-1104.
- 49 Kim EA, et al. Protective effect of fucoidan against AAPH-induced oxidative stress in zebrafish model [J]. Carbohy Poly,2014,102:185-191.
- 50 Qu H, et al. Atherosclerosis and intestinal microenvironment based on the theory of "heart connecting with small intestine" [J]. J Trad Chin Med (中医杂志),2018,23:2009-2012.
- 51 Yuan XF, et al. Study on intestinal micro-ecological mechanism of atherosclerosis [J]. Chin J Ethnomed Ethnophar (中国民族民间医药),2015,24:19-20.