

# 马尾藻岩藻聚糖硫酸酯组成分析及抗血栓活性评价

廖 敏<sup>1</sup>, 王维民<sup>1,\*</sup>, 湛素华<sup>1,2</sup>, 廖森泰<sup>3</sup>

(1. 广东海洋大学食品科技学院, 广东 湛江 524088; 2. 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东 湛江 524088; 3. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东 广州 510610)

**摘 要:** 运用超声波热水浸提工艺从亨氏马尾藻中提取并经脱蛋白等初级纯化过程得到岩藻聚糖硫酸酯(F)。将F过DEAE C-52阴离子交换层析柱, 得到次级纯化后的岩藻聚糖硫酸酯(F1)。对F、F1进行化学组成分析, 用气相色谱-质谱联用方法测定其单糖组成。通过体外溶栓实验、小鼠肺栓塞实验以及出血实验对F及F1进行抗血栓活性评价。结果表明: 与F相比, F1总糖含量、岩藻糖含量、硫酸基含量、单糖组成的种类均增多。中、高剂量的F、F1对血凝块有明显的溶解作用, 且高剂量的血块溶解率显著高于尿激酶阳性对照组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。F及F1均能降低肺栓塞模型小鼠的死亡率, 且高剂量的F1与模型对照组相比有极显著差异( $P < 0.01$ )。低、中、高剂量的F、F1均显著延长出血时间( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), F1低、中、高剂量组的出血时间均分别高于F各剂量组。F、F1各剂量组与肝素钠阳性对照组相比均有极显著差异( $P < 0.01$ ), 出血时间的延长率明显小于肝素钠对照组。说明马尾藻岩藻聚糖硫酸酯F、F1有较好的抗血栓活性, 出血危险性较小, 且F1抗血栓作用优于F。

**关键词:** 马尾藻; 岩藻聚糖硫酸酯; 抗血栓

## Composition Analysis and Antithrombotic Activity of Fucoidan from *Sargassum henslowianum* C. Agardh

LIAO Min<sup>1</sup>, WANG Weimin<sup>1,\*</sup>, CHEN Suhua<sup>1,2</sup>, LIAO Sentai<sup>3</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang 524088, China; 3. Sericulture & Farm Produce Processing Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** Fucoidan (F) from *Sargassum henslowianum* C. Agardh was extracted by ultrasonic-assisted hot water extraction and the extract was deproteinized by Sevag method and purified by DEAE C-52 anion exchange column chromatography. The chemical compositions of the crude (F) and purified (F1) fucoidan were analyzed and their monosaccharide compositions were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Meanwhile, antithrombotic activity was evaluated by thrombolysis test *in vitro*, pulmonary embolism test and hemorrhage test in mice. The results showed that the contents of total saccharide, fucose and  $\text{SO}_4^{2-}$  in F1 were increased and F1 was composed of more monosaccharides when compared with F. The bleeding time of low, middle and high dose of F1 were higher than each dose of F, and their effects at high dose were significantly higher than that of urokinase ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Both F and F1 could reduce the mortality of pulmonary embolism model mice, and there was a extremely significant difference between high-dose F1 and the model group ( $P < 0.01$ ). F and F1 could significantly prolong the bleeding time ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Compared to the heparin sodium control group, all dose groups showed a extremely significant difference ( $P < 0.01$ ) and were significantly less effective in prolonging the bleeding time. These findings led to the conclusion that the crude and purified fucoidan from *Sargassum henslowianum* C. Agardh have good antithrombotic activity and cause little risk of bleeding and the antithrombotic effect of F1 is better than that of F.

**Key words:** *Sargassum*; fucoidan; antithrombosis

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719030

中图分类号: TS254.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)19-0189-06

收稿日期: 2016-07-04

基金项目: 2015年广东省研究生教育创新计划项目(粤教研函[2016]1号); 广东省自然科学基金项目(2015A030313618); 广东海洋大学创新强校工程项目(GDOU2014041603); 湛江市科技计划项目(2014A03017)

作者简介: 廖敏(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工及贮藏。E-mail: astridy\_42@163.com

\*通信作者: 王维民(1958—), 男, 教授, 本科, 研究方向为食品加工及贮藏。E-mail: wwaa1816@163.com

引文格式:

廖敏, 王维民, 谌素华, 等. 马尾藻岩藻聚糖硫酸酯组成分析及抗血栓活性评价[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 189-194.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719030. <http://www.spkx.net.cn>

LIAO Min, WANG Weimin, CHEN Suhua, et al. Composition analysis and antithrombotic activity of fucoidan from *Sargassum henslowianum* C. Agardh[J]. Food Science, 2017, 38(19): 189-194. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201719030. <http://www.spkx.net.cn>

目前世界上人类主要的死亡(约30%)是由心血管疾病造成的,尤其是血栓症<sup>[1]</sup>,血栓形成在心血管疾病如急性冠脉综合征的发病机制中起到非常关键的作用<sup>[2]</sup>。目前,市面上的抗血栓药都不能完全阻断血栓的生成,且都有不同程度的毒副作用,有出血性危险,亟待寻找和开发天然的新型抗血栓功能食品成分。亨氏马尾藻(*Sargassum henslowianum* C. Agardh)属褐藻门、墨角藻目、马尾藻科、马尾藻属植物,资源十分丰富,在我国香港、海南、汕头、福建莆田和平潭、广东上川岛和碓洲岛等地均有分布<sup>[3]</sup>。马尾藻可食性差,多数马尾藻尚未得到充分开发利用,只有小部分被用作饲料、肥料、提取藻胶和医药工业的原料<sup>[4]</sup>。褐藻中富含的岩藻聚糖硫酸酯(fucoidan, F)是一种含硫酸基的水溶性杂聚糖,许多研究表明其具有抗凝血、降血脂、抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、抗血栓等多种生物活性<sup>[5-7]</sup>,在人类健康方面有良好的应用前景。马尾藻中含有丰富的岩藻聚糖硫酸酯(硫酸多糖),是开发海洋多糖药物及保健食品的宝贵资源,而目前对马尾藻岩藻聚糖硫酸酯的活性研究主要有降血脂<sup>[8]</sup>、抗肿瘤<sup>[9]</sup>、抗氧化<sup>[10]</sup>等,对其抗血栓活性研究鲜见报道。

本研究通过小鼠肺栓塞实验、小鼠出血实验以及体外溶栓实验对来源于亨氏马尾藻中的2种级别的岩藻聚糖硫酸酯进行抗血栓活性评价,探讨其可能的抗血栓成分。旨在为马尾藻岩藻聚糖硫酸酯作为抗血栓候选药和功能性食品提供理论依据,为加大亨氏马尾藻的开发利用、开发特色海藻资源提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物、材料与试剂

#### 1.1.1 动物

昆明小鼠, SPF级, 体质量18~22 g, 雄性, 购于广东省实验动物中心(许可证号: SCXK(粤)2013-0002)。小鼠适应性喂养1周, 正常进食, 自由饮水。实验单位动物使用许可证号: SYXK(粤)2014-0053。

#### 1.1.2 材料与试剂

由2015年采自湛江碓洲岛的亨氏马尾藻经超声波热水浸提, Sevag法除蛋白, 冷冻干燥后得粗岩藻聚糖硫酸酯(F)。采用DEAE C-52阴离子交换层析法对F进行分

级纯化, 1.3 mol/L NaCl溶液洗脱组分经冷冻干燥得纯化后的岩藻聚糖硫酸酯F1。

DEAE-52纤维素、肝素钠 广州鼎国生物技术有限公司; 尿激酶 上海叶源生物科技有限公司; 胶原蛋白 山东西亚试剂有限公司; 葡萄糖、L-岩藻糖、木糖、半乳糖、甘露糖、鼠李糖、阿拉伯糖(均为色谱纯) 美国Sigma公司; 浓硫酸、盐酸等试剂均为国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

真空冷冻干燥机 韩国Ilshin公司; 高速冷冻离心机 日本日立公司; 旋转蒸发器 上海爱朗仪器有限公司; QP 2010Plus气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)仪 日本岛津公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 岩藻聚糖硫酸酯的化学组成测定

多糖含量(质量分数, 下同)测定采用苯酚硫酸法<sup>[11]</sup>; 岩藻糖含量测定采用Dische比色法<sup>[12]</sup>; 硫酸基含量测定采用Dodgson法<sup>[13]</sup>; 糖醛酸含量测定采用吡啶法<sup>[14]</sup>; 单糖组成分析采用糖腈乙酸酯衍生GC-MS法<sup>[15]</sup>。

#### 1.3.2 岩藻聚糖硫酸酯抗血栓活性测定

##### 1.3.2.1 体外血凝块溶解实验

参考文献[16]的方法。实验分组: 正常对照组(生理盐水); F及F1低、中、高剂量组(1、6、12 mg/mL); 阳性对照组(900 U/mL尿激酶)。F及F1和尿激酶均用生理盐水溶解。

小鼠眼球取血, 血液凝固前取1 mL至EP管中, 于室温放置24 h, 待其自然凝固后小心取出血凝块, 用吸水纸吸除血凝块表面液体, 称质量。将血凝块放入EP管中, 分别加入尿激酶、生理盐水以及不同质量浓度F、F1各1 mL, 于37 °C温浴15 h后取出, 用吸水纸吸除血凝块表面液体, 称质量, 比较给药前后血凝块质量并按式(1)计算血块溶解率<sup>[17]</sup>。

$$\text{血块溶解率}/\% = \frac{m - m_1}{m} \times 100 \quad (1)$$

式中:  $m$ 为血块给药前湿质量/g;  $m_1$ 为血块给药后湿质量/g; 各剂量平行6次, 结果取平均值。

##### 1.3.2.2 岩藻聚糖硫酸酯对胶原蛋白-肾上腺素诱发小鼠体内血栓形成的影响

参考文献[18-20]的方法。昆明种小鼠90只, 体质量

18~22 g, 随机分为9组, 每组10只, 设正常对照组, 模型对照组, 阳性对照组 (20 mg/(kg·d) 肝素钠, 以体质量计, 下同), F和F1高、中、低剂量组 (15、30、60 mg/(kg·d))。分别连续灌胃给药F、F1和肝素钠, 正常对照组和模型对照组灌喂给生理盐水5 d, 每天1次, 给药体积为20 mL/kg。于末次给药2 h后, 正常对照组注射10 mL/kg的生理盐水, 其余各组小鼠尾静脉注射造模剂 (含0.5 mg/mL的I型胶原和0.05 mg/mL盐酸肾上腺素, 用生理盐水配制) 10 mL/kg造成小白鼠体内肺栓塞模型。注射后立即观察15 min内小白鼠死亡情况, 计算存活率。

### 1.3.2.3 小鼠横断切尾出血实验

参考文献[21]的方法。昆明小鼠18~22 g, 80只, 随机分为8组, 设正常对照组 (10 mL/kg生理盐水), F和F1低、中、高剂量组 (15、30、60 mg/(kg·d)) 及阳性对照组 (20 mg/(kg·d) 肝素钠)。各组分别尾静脉注射给药30 min后, 固定小鼠, 距尾尖3 mm处剪断, 从切断鼠尾流出第一滴血起每隔30 s用滤纸片接触伤口, 直至无血痕为止, 记录此出血时间, 按式 (2) 计算出血时间延长率<sup>[22]</sup>。

$$\text{出血时间延长率}/\% = \frac{t-t_1}{t_1} \times 100 \quad (2)$$

式中:  $t$ 为给药组出血时间/s;  $t_1$ 为正常对照组出血时间/s。

### 1.4 数据统计分析

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用SPSS 19.0统计软件进行方差分析及 $t$ 检验。组间差异显著性检验,  $P < 0.05$ 表示有显著性差异,  $P < 0.01$ 表示有极显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 岩藻聚糖硫酸酯的化学组成分析

表1 岩藻聚糖硫酸酯的化学组成  
Table 1 Chemical components of crude and purified fucoidans

样品	总糖含量	岩藻糖含量	硫酸基含量	糖醛酸含量/%
F	32.86	15.62	12.76	11.9
F1	58.62	24.87	20.78	13.8

由表1可知, 岩藻聚糖硫酸酯是含有一定数量岩藻糖和硫酸基, 并伴有部分糖醛酸的杂多糖。随着样品纯度的提升, 其总糖、岩藻糖、硫酸基的含量也随之增加; F1与F相比, 糖醛酸含量也稍有增加。将F与分级纯化后的F1水解并进行乙酰化处理后用GC-MS分析其单糖组成, 将混合单糖标准品进行乙酰化处理后用GC-MS分析作为对照, 混合单糖标准品GC-MS结果见图1。

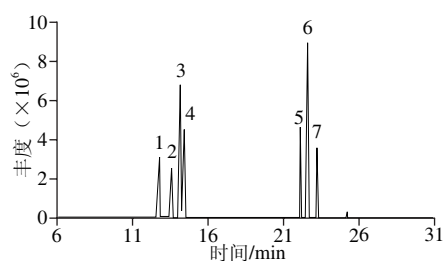


图1 混合标准单糖GC-MS图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram of standard monosaccharide mixture

结合各标准单糖GC-MS分析, 可知各标准单糖的GC-MS出峰顺序依次为鼠李糖 (Rha, 峰1)、阿拉伯糖 (Ara, 峰2)、岩藻糖 (Fuc, 峰3)、木糖 (Xyl, 峰4)、甘露糖 (Man, 峰5)、葡萄糖 (Glc, 峰6)、半乳糖 (Gal, 峰7)。

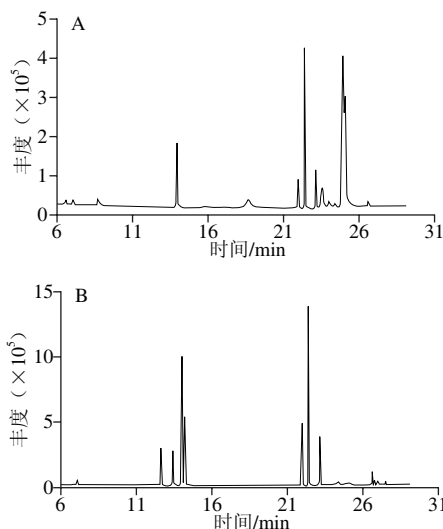


图2 F (A)、F1 (B) 的GC-MS图

Fig. 2 GC-MS total ion chromatograms of F (A) and F1 (B)

由图2可知, 岩藻聚糖硫酸酯F及F1的各单糖组成种类和比例均不相同, F1各单糖的丰度更大, 含量更多。许多研究也表明, 大多数岩藻聚糖硫酸酯都不止由岩藻糖和硫酸基组成, 还含有半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖、鼠李糖等其他组分, 化学组成十分复杂<sup>[23]</sup>, 不同藻类来源、提取方法所得的岩藻聚糖硫酸酯的单糖组成各不相同<sup>[24-25]</sup>。粗岩藻聚糖硫酸酯F在保留时间24.935、25.098 min处出现一未定性的物质, 由GC-MS谱库和数据库可知其为八醋酸纤维素, 可以推测F中含有较多纤维素类物质, 而用阴离子交换层析法纯化所得的F中无此类物质。F和F1中各单糖的含量由表2可知, F1中岩藻糖的含量仅比F提升了2.88%; 粗岩藻聚糖硫酸酯F的单糖组成中, 葡萄糖所占百分数高达50.17%, 这可能是由于粗岩藻聚糖硫酸酯F中含有大量的中性葡萄糖; 过阴离子交换柱后, 中性糖被蒸馏水洗去, 纯化组分F1, 葡萄糖所占百分数减少, 木糖、鼠李糖、阿拉伯糖等单糖被检出。



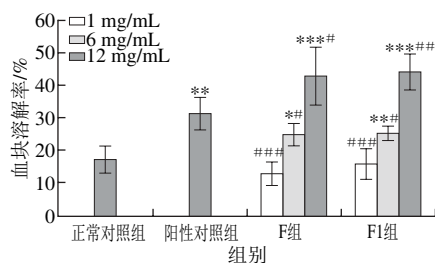
表2 岩藻聚糖硫酸酯的单糖组成及含量  
Table 2 Monosaccharide compositions of fucoidans

样品	鼠李糖含量	阿拉伯糖含量	岩藻糖含量	木糖含量	甘露糖含量	葡萄糖含量	半乳糖含量
F	Nd	Nd	29.37	Nd	0.09	50.17	11.46
F1	6.61	6.8	26.49	13.45	8.48	26.06	6.79

注: Nd.未检出。

## 2.2 岩藻聚糖硫酸酯抗血栓活性评价

### 2.2.1 体外血凝块溶解实验结果



\*.与正常对照组相比差异显著 ( $P<0.05$ ); \*\*.与正常对照组相比差异极显著 ( $P<0.01$ ); \*\*\*.与正常对照组相比差异高度显著 ( $P<0.001$ ); #.与阳性对照组相比差异显著 ( $P<0.05$ ); ##.与阳性对照组相比差异极显著 ( $P<0.01$ ); ###.与阳性对照组相比差异高度显著 ( $P<0.001$ )。图4同。

图3 岩藻聚糖硫酸酯对血块的溶解作用

Fig. 3 Thrombolytic effect of fucoidans on blood clots

由图3可知,与正常对照组相比,1 mg/mL的F、F1对血凝块无明显溶解作用 ( $P>0.05$ ),F及F1的中、高剂量组和阳性对照组均有统计学差异 ( $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$ ),对体外形成的小鼠血凝块有明显的溶解作用。阳性对照组血块溶解率为  $(31.44\pm 4.95)\%$ ,F、F1高剂量组血块溶解率分别可达  $(42.87\pm 8.97)\%$ 、 $(44.32\pm 5.45)\%$ ,F高剂量组血块溶解率显著高于阳性对照组 ( $P<0.05$ ),F1高剂量组的血凝块溶解率极显著高于阳性对照组 ( $P<0.01$ ),而F、F1相同剂量组间无显著性差异 ( $P>0.05$ )。

### 2.2.2 岩藻聚糖硫酸酯对胶原蛋白-肾上腺素诱发小鼠体内血栓形成的影响

表3 岩藻聚糖硫酸酯对胶原蛋白-肾上腺素诱发小鼠体内血栓形成的影响 ( $n=10$ )

Table 3 Effect of fucoidans on collagen-adrenalin-induced thrombosis in mice ( $n=10$ )

组别	死亡数	存活数	存活率/%
正常对照组	0	0	100
模型对照组	9	1	10
F低剂量组	8	2	20
F中剂量组	6	4	40
F高剂量组	6	4	40
F1低剂量组	6	4	40
F1中剂量组	5	5	50
F1高剂量组	4	6	60*
阳性对照组	2	8	80**

注: \*.与模型对照组相比差异显著 ( $P<0.05$ ); \*\*.与模型对照组相比差异极显著 ( $P<0.01$ )。

静脉血栓和肺栓塞是造成血管疾病死亡率和发病率的重要原因<sup>[26]</sup>。胶原、肾上腺素、凝血酶、二磷酸腺苷均为血小板聚集诱导剂,胶原蛋白和肾上腺素合用时有显著的协同作用,给小鼠静脉注射可引起血栓性偏瘫和死亡<sup>[27]</sup>。由表3可以看出,F、F1均能降低肺栓塞模型小鼠的死亡率,但通过统计只有F1高剂量组与模型对照组相比有显著差异 ( $P<0.05$ )。阳性对照组能极显著地降低模型小鼠的死亡率 ( $P<0.01$ )。F各剂量组间存活率无明显变化;F1各剂量组结果表明:F1剂量增大,肺栓塞模型小鼠的存活率有所提高。F1较F有更好的抗血栓作用,这可能是由于F1较F有更多的硫酸基。Takashi<sup>[28]</sup>和Nishino<sup>[29]</sup>等的研究也表明岩藻聚糖硫酸酯的抗凝和肝素辅因子II介导的抗血栓活性可能依赖于多糖的硫酸基含量。

### 2.3 小鼠横断切尾出血实验结果

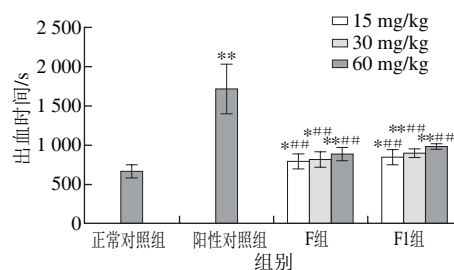


图4 岩藻聚糖硫酸酯对小鼠出血时间的影响

Fig. 4 Effect of fucoidans on bleeding time of mice

尾静脉注射F、F1两种岩藻聚糖硫酸酯对小鼠出血时间的影响由图4可知,15、30 mg/kg F及15 mg/kg F1与正常对照组相比有显著性差异 ( $P<0.05$ );阳性对照组、60 mg/kg F及30、60 mg/kg F1与正常对照组相比有极显著差异 ( $P<0.01$ )。F1低、中、高剂量组的出血时间均分别高于F各剂量组,F、F1各剂量组与阳性对照组相比均有显著差异 ( $P<0.01$ )。阳性对照组、F和F1各剂量组(15、30、60 mg/kg)的出血时间延长率分别为153.33%、18.90%、21.97%、33.14%、26.73%、35.16%、46.27%,正常对照组的出血时间为  $(667\pm 87)$  s。肝素类药物的抗血栓效果随浓度的增加而增加,但这也增加出血危险,它们的出血性不良作用限制了其临床应用<sup>[30]</sup>。Min等<sup>[31]</sup>认为硫酸基和岩藻糖含量是决定岩藻聚糖硫酸酯抗凝特性很重要的因素,而肝素和岩藻聚糖硫酸酯虽都是具抗凝作用的硫酸多糖,但其凝血作用是基于不同的机制从而导致其在出血影响上有很大的不同。本实验表明马尾藻岩藻聚糖硫酸酯的出血性危险明显小于肝素钠。

## 3 结论

制备的F岩藻糖含量、硫酸基含量、总糖含量分别为15.62%、12.76%、32.86%;制备的F1岩藻糖含量、硫

酸基含量、总糖含量分别为24.87%、20.78%、58.62%；F1比F岩藻糖含量、硫酸基含量、总糖含量分别提高了9.25%、8.02%、25.76%。且F1的鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖、木糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖的组成与F相比含量不同。岩藻聚糖硫酸酯的硫酸基含量、单糖组成和结构等有很大不同，其生物活性也存在很大差异<sup>[30]</sup>。2种级别岩藻聚糖硫酸酯化学组成，尤其是硫酸基含量的差异导致其抗血栓活性有所不同。

低、中、高剂量的F和F1对血凝块的溶解率分别为： $(13.16 \pm 3.26)\%$ 、 $(24.95 \pm 3.42)\%$ 、 $(42.87 \pm 8.97)\%$ ， $(15.83 \pm 4.74)\%$ 、 $(25.52 \pm 2.08)\%$ 、 $(44.32 \pm 5.45)\%$ ，且呈剂量依赖性；中、高剂量的F及F1与正常对照组（血凝块溶解率为 $(17.35 \pm 4.03)\%$ ）对比有显著差异（ $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ ），F、F1有明显的血凝块溶解作用；高剂量的F、F1血凝块溶解作用显著优于阳性对照组（血凝块溶解率为 $(31.44 \pm 4.95)\%$ ）。

F组肺栓塞模型小鼠的存活率均为40%；F1低、中、高剂量组肺栓塞模型小鼠的存活率分别为40%、50%、60%，呈剂量依赖性；随着岩藻聚糖硫酸酯纯度的增加，肺栓塞小鼠的存活率提升。

F低、中、高剂量组出血时间延长率分别为18.90%、21.97%、33.14%，且呈剂量依赖性；低、中、高浓度F1组出血时间延长率分别为26.73%、35.16%、42.67%，且呈剂量依赖性。F、F1各剂量组均显著小于阳性对照组的出血时间延长率（153.53%），与肝素钠相比仅表现出较小的出血性危险。

本研究表明，马尾藻岩藻聚糖硫酸酯具有较好的抗血栓活性，且出血危险较小，是潜在的抗血栓功能食品成分。通过对比F及F1的组成分析及抗血栓效果，可以推测马尾藻岩藻聚糖硫酸酯的抗血栓活性与其岩藻糖含量、硫酸基含量及单糖组成情况有密切关系。岩藻聚糖硫酸酯的抗血栓活性主要归功于其岩藻吡喃糖基及其硫酸残基<sup>[32]</sup>。多糖抗血栓作用的构效关系是近年来糖类化合物研究的热点，不同岩藻聚糖硫酸酯的化学组成和结构差异较大，通过不同的机制发挥抗血栓作用。岩藻聚糖硫酸酯的抗血栓构效关系以及抗血栓作用机理值得进一步研究。

#### 参考文献：

- [1] XUE Zhao, DONG Shizhu, WANG Jingfeng, et al. A comparative study of antithrombotic and antiplatelet activities of different fucoidans from *Laminaria japonica*[J]. Thrombosis Research, 2012, 129: 771-778. DOI:10.1016/j.thromres.2011.07.041.
- [2] KUMAR A, KAR S, FAY W P. Thrombosis, physical activity, and acute coronary syndromes[J]. Journal of Applied Physiology, 2011, 111(2): 599-605. DOI:10.1152/jappphysiol.00017.2011.
- [3] 曾呈奎. 墨角藻目[M]//中国海藻志, 北京: 科学出版社, 2000: 113-115.
- [4] 谌素华, 王维民, 刘辉, 等. 亨氏马尾藻化学成分分析及其营养学评价[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(5): 154-156. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2010.05.046.
- [5] 刘颖, 张敏, 吴茜茜, 等. 岩藻多糖的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(6): 146-151; 155. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2011.06.039.
- [6] KADAM S U, TIWARI B K, O'DONNELL C P. Extraction, structure and biofunctional activities of laminarin from brown algae[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2015, 50: 24-31. DOI:10.1111/ijfs.12692.
- [7] USTYUZHANINAN E, USHAKOVAN A, MARINA E. Fucoidans as a platform for new anticoagulant drugs discovery[J]. Pure and Applied Chemistry, 2014, 86(9): 1365-1375. DOI:10.1515/pac-2014-0404.
- [8] 谌素华, 王维民, 刘辉, 等. 马尾藻岩藻聚糖硫酸酯纯化及降血脂功能研究[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(5): 28-31. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2010.05.039.
- [9] 王维民, 蔡璐, 谌素华, 等. 马尾藻岩藻聚糖对小鼠肉瘤细胞S-180的影响[J]. 中国食品学报, 2014, 14(8): 27-33. DOI:10.16429/j.1009-7848.2014.08.032.
- [10] DORE C M P G, ALVES M G D C, WILL L S E P, et al. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 91: 467-475. DOI:10.1016/j.carbpol.2012.07.075.
- [11] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 2版. 杭州: 浙江大学出版社, 1999: 11-12.
- [12] GIBBONS M N. The determination of methylpentoses[J]. Analyst, 1955, 80: 267-276. DOI:10.1039/an9558000268.
- [13] 张惟杰. 复合多糖生化研究技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987: 296-297.
- [14] BITTER T. A modified uronic acid carbazole reaction[J]. Analytical Biochemistry, 1962, 4(4): 330-334. DOI:10.1016/0003-2697(62)90095-7.
- [15] 武翠玲, 孟延发. 药用真菌马勃多糖中单糖组成GC-MS分析[J]. 长治医学院学报, 2009, 23(4): 254-256. DOI:10.3969/j.issn.1006-0588.2009.04.005.
- [16] 张建造, 黄巧冰, 刘玉华, 等. 复方血栓通滴丸对大鼠体内血栓形成和体外溶栓的作用[J]. 中药材, 2003, 26(12): 881-882. DOI:10.3321/j.issn:1001-4454.2003.12.016.
- [17] 朱虹, 吴强, 徐明, 等. 黄芪总提取物内外抗血栓作用的实验研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(8): 917-920. DOI:10.3969/j.issn.1009-2501.2005.08.017.
- [18] 周文婷, 依把代提·托合提, 田树革, 等. 罗勒提取物抗血栓作用及其作用机制的研究[J]. 中成药, 2010, 32(5): 722-726. DOI:10.3969/j.issn.1001-1528.2010.05.008.
- [19] 杨敏. 纳豆激酶粗提液抗血栓降血脂及抗氧化作用的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013: 20-21.
- [20] 乌兰巴依尔, 依巴代提·吐呼提, 田树革, 等. 维药樛梔提取物的抗血栓作用机制的研究[J]. 中国民族医药杂志, 2010, 16(9): 54-57. DOI:10.16041/j.cnki.cn15-1175.2010.09.035.
- [21] 钱海兵, 王祥培. 油茶叶水提物抗凝血及抗血栓形成作用研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(21): 11136-11137. DOI:10.3969/j.issn.0517-6611.2010.21.041.
- [22] 孙杨. 低分子量藻酸双酯钠的制备及其抗血栓活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012: 49-51.
- [23] 徐杰, 李八方, 薛长湖, 等. 羊栖菜岩藻聚糖硫酸酯的提取纯化和化学组成研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2006, 36(2): 269-272. DOI:10.3969/j.issn.1672-5174.2006.02.019.

- [24] JIMÉNEZ-ESCRIG A, GÓMOEZ-ORDÓÑEZ E, RUPÉREZ P. Infrared characterisation, monosaccharide profile and antioxidant activity of chemical fractionated polysaccharides from the edible seaweed sugar Kombu (*Saccharina latissima*)[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2015, 50: 340-346. DOI:10.1111/ijfs.12655.
- [25] 钱垂文, 张志东, 王一飞. 裙带菜酸性多糖的分离纯化与鉴定[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(11): 161-165. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2010.11.011.
- [26] SHU E, MATSUNO H, ISHISAKI A, et al. Lack of plasminogen activator inhibitor-1 enhances the preventive effect of DX-9065a, a selective factor Xa inhibitor, on venous thrombus and acute pulmonary embolism in mice[J]. Pathophysiology of Haemostasis and Thrombosis, 2003, 33(4): 206-213. DOI:10.1159/000081510.
- [27] 陈奇, 邓文龙, 孙瑞元. 中药药理研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 579.
- [28] TAKASHI N, NAGUMO T. Anticoagulant and antithrombin activities of oversulfated fucans[J]. Carbohydrate Research, 1992, 229: 355-362. DOI:10.1016/S0008-6215(00)90581-0.
- [29] NISHINO T, AIZU Y, NAGUMO T. Antithrombin activity of a fucan sulfate from the brown seaweed *Ecklonia kurome*[J]. Thrombosis Research, 1991, 62: 765-773. DOI:10.1016/0049-3848(91)90380-F.
- [30] 陈安进. 不同分子质量海带岩藻聚糖硫酸酯抗血栓活性及机理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012: 5-74.
- [31] MIN S K, KWON O C, LEE S, et al. An antithrombotic fucoidan, unlike heparin, does not prolong bleeding time in a murine arterial thrombosis model: a comparative study of *Undaria pinnatifida* sporophylls and *Fucus vesiculosus*[J]. Phytotherapy Research, 2012, 26: 752-757. DOI:10.1002/ptr.3628.
- [32] KADAM S U, TIWARI B K, O'CONNELL S, et al. Effect of ultrasound pretreatment on the extraction kinetics of bioactives from brown seaweed (*Ascophyllum nodosum*)[J]. Separation Science and Technology, 2015, 50(5): 670-675. DOI:10.1080/01496395.2014.960050.