

海洋生物抗氧化活性物质的研究进展

刘瑞娟, 张崇禧

(山东大学威海分校 海洋学院, 山东 威海, 264209)

摘要: 综述了海洋生物抗氧化活性物质种类及研究现状, 讨论了海洋生物抗氧化活性物质的抗氧化作用及其机理, 并展望了从海洋中寻找抗氧化活性物质的广阔前景。

关键词: 海洋生物; 抗氧化; 种类; 机理

中图分类号: Q 948.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)09-0221-04

自由基(Free radical)医学在1969年McCord和Fridovich发现了超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)的作用后日趋成熟^[1]。活性自由基对生物膜和其它组织可产生一系列的有害^[2], 因而自由基在生理、病理过程中的作用越来越引起有关学者的关注。同时, 在动物、植物和微生物中不断有抗氧化活性物质被发现, 天然或合成的抗氧化活性物质不断增加, 这些物质主要通过清除自由基或阻断自由基产生或将已形成的自由基逆转为原来的生物大分子而体现活性^[1]。

近年来, 随着海洋生物研究的深入开发和研究技术的提高, 不断从海洋生物中发现一些具有抗氧化活性的化合物。从海洋生物中寻找新的天然抗氧化活性物质、新的抗衰老药物已成为海洋药物研究的重要目标之一。海洋生物抗氧化物质可通过各种途径清除内源性和外源性自由基, 具有抗氧化作用强、种类多、结构复杂、副作用低等特点^[2]。现就海洋生物抗氧化活性物质的种类、抗氧化作用及机理等方面进行了综述, 并对其开发和利用进行了展望。

1 糖及其衍生物

多糖是构成生物体的一类十分重要的有机化合物, 是生命的物质基础, 在控制细胞分裂、调节细胞生长及维持有机体正常代谢等方面具有重要作用^[3]。同时, 多糖也是一类重要的海洋生物活性物质, 由各种海洋生物中分离的多糖, 从来源可分为海洋动物多糖、海洋植物多糖、海洋微生物多糖^[4]。

1.1 螺旋藻多糖(Polysaccharide from *Spirulina platensis*, PSP)

第一作者简介: 刘瑞娟(1988), 女, 在读本科, 研究方向为海洋生物资源。

通讯作者: 张崇禧(1954), 男, 博士, 教授, 现从事天然产物化学成分研究。E-mail: zcx_11@126.com。

收稿日期: 2010-02-22

PSP是从螺旋藻中分离、纯化的水溶性多糖, 其主要成分为鼠李糖、甘露糖、葡萄糖及半乳糖等, 是由 α -鼠李糖-甲基鼠李糖和 α -己糖醛酸2种双糖重复组成^[3]。目前, 国内外研究PSP大都从钝顶螺旋藻(*Spirulina platensis*)、极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)和盐泽螺旋藻(*Spirulina subsalsala*)中进行分离纯化^[1]。

左绍远^[5]等研究表明, PSP能使四氧嘧啶(ALEX)所致糖尿病小鼠血糖降低; 血清SOD活性、全血GSH-Px活性及GSH活性显著回升; 血清MDA含量明显下降。结果表明PSP能降低性ALEX糖尿病小鼠血糖并显著增强其抗氧化能力。李羚^[6]等通过 FeSO_4 诱导脂质过氧化模型、硫代巴比妥酸分光光度法研究了螺旋藻及螺旋藻多糖抗脂质过氧化及对 $\cdot\text{OH}$ 引起的DNA氧化损伤的保护作用。结果表明, 螺旋藻及螺旋藻多糖能有效清除 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 自由基, 对脂质过氧化及DNA的 $\cdot\text{OH}$ 氧化损伤有显著抑制作用。

1.2 甲壳质(Chitin)及其衍生物

壳聚糖是线性高分子多糖, 大量存在于海洋节肢动物的甲壳中, 与甲壳质相比, 壳聚糖的溶解性大为改善^[1]。壳聚糖是甲壳素脱乙酰基产物, 具有良好的生物相容性、安全性、可生物降解和多种生物活性, 其中壳聚糖的抗氧化活性显得尤为重要。

中国海洋大学以甲壳质为原料, 制成一种聚硫酸氨基多糖, 命名为“916”低聚糖。胡金凤^[7]等研究了甲壳质衍生物“916”对 H_2O_2 损伤的淋巴细胞的保护作用。在造模的同时, 分别给药 $0.001\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 作用2h后用MTT法检测细胞的存活率。结果显示, “916”在浓度为 $0.001\sim 100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内皆可对抗 $12.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{H}_2\text{O}_2$ 造成的淋巴细胞损伤, 明显升高淋巴细胞的存活率, 并且呈剂量依赖关系。结果说明“916”具有明显的抗氧化活性。刘华文^[8]等用分光光度法, 分别对壳聚糖和壳聚糖与钙离子的配合物清除超氧阴离子自由基(O_2^-)的效果进行了测定。结果显示, 壳聚糖对 O_2^- 的清

除率可达 73.1%, 壳聚糖与钙离子的配合物对 O_2^- 清除率可高达 80.7%。实验结果表明, 壳聚糖及其与钙离子的配合物具有较好的抗氧化作用。

1.3 鼠尾藻多糖(*Sargassum thunbergii* polysaccharide, STPS)、铜藻多糖(*Sargassum homeri* polysaccharide, SHPS)和紫球藻胞外多糖

杨方美^[9]等采用正交试验设计, 得到了鼠尾藻多糖的最佳提取条件: Ph 为 4, 破壁功率 600 W, 破壁时间 200 s, 提取温度 100℃, 提取时间 6h, 三氯乙酸浓度 3% (W/V), 乙醇浓度 70% (V/V); 在此条件下, 多糖提取率可达到 6.24% (W/W)。通过 Sepharose 4B 柱对该多糖进行了层析纯化, 并用自由基清除方法测定了其体外抗氧化活性, 结果表明: 鼠尾藻多糖有较高的抗氧化活性, 对 DPPH· 的清除率在 50% 以上, 对 ·OH 和 O_2^- 直接清除能力也超过了 30%。黄建^[10]等通过尾静脉注射四氧嘧啶建立小鼠糖尿病模型, 分别用紫球藻胞外多糖按 1 kg 体重质量 300 mg 和 150 mg 灌胃给药, 连续 21 d 后, 分别测定空腹 12 h 血糖和血浆 SOD 活性, 发现 SOD 活性显著升高, 表明紫球藻胞外多糖有一定抗氧化能力。

1.4 硫酸多糖类

硫酸多糖是含硫酸基、多聚阴离子的直链大分子化合物。张全斌^[11]等采用体外试验研究海带褐藻多糖硫酸酯对超氧阴离子、羟自由基、DPPH 的清除作用以及对 HO 诱导的红细胞氧化溶血和大鼠肝匀浆脂质过氧化的保护作用。结果发现, 海带褐藻多糖硫酸酯对超氧阴离子具有良好的清除作用, IC₅₀ 为 20.3 μg/mL, 其对羟自由基的清除作用较弱, 对有机自由基 DPPH 的作用很弱。其结论表明海带褐藻多糖硫酸酯具有显著的体外抗氧化活性。陆艳娟^[12]等研究褐藻多糖硫酸酯 (APS) 对老龄小鼠超氧化物歧化酶 (SOD) 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-px) 丙二醛 (MDA) 的影响, 结果表明, APS 能够提高老龄小鼠 SOD、GSH-px 活力, 降低 MDA 含量, 具有一定清除自由基作用。

2 维生素类

2.1 维生素 E (vitamine E)

维生素 E 是聚异戊二烯取代的 6-羟基苯并二氢吡喃衍生物, 在苯环上有一个酚羟基。它是活性基团, 能够释放其羟基上的活泼氢并捕获自由基, 从而阻断自由基的链式反应。同时, 维生素 E 是一种细胞内抗氧化剂, 对氧十分敏感, 极易被氧化而保护其它物质不被氧化^[13]。因此维生素 E 是一种绿色的抗氧化剂。天然维生素 E 的提取常见的有超临界 CO₂ 萃取法和尿素络合法。目前在食品、医疗、化妆品等方面已有广泛的应用。

2.2 类胡萝卜素 (Carotenoid)

类胡萝卜素是胡萝卜素 (Carotene) 和叶黄素 (Xan-

thophyll) 两大类色素的总称。类胡萝卜素分子结构中含有多个共轭双键, 这种特殊的结构赋予它淬灭单线态氧的能力。可以与自由基起反应, 形成无害的产物, 或通过破坏自由基链反应, 将自由基清除。在植物中类胡萝卜素可清除活性氧而使植物免遭强太阳光的灼伤。在动物体内的类胡萝卜素可捕获自由基, 从而保护动物细胞免遭自由基的破坏^[14]。

裴凌鹏^[15]等用 D-半乳糖注射 Wister 雄性大鼠 5 个月, 建立衰老模型, 对模型组、药物组血清 MDA 含量、肝脏匀浆 MDA 含量和血液 SOD、GSH-Px 酶活性进行测定及比较。结果表明, 药物组血清 MDA 含量和肝脏匀浆 MDA 含量均比模型组有显著降低 ($P < 0.01$), 而血液 SOD、GSH-Px 酶活性比模型组有显著升高 ($P < 0.01$)。因此摄入适量叶黄素可以有效地增强大鼠机体抗氧化能力, 从而延缓 D-半乳糖诱发的大鼠衰老。陈晋明^[16]等分别采用硫氰酸铁法 (FTC)、邻二氮菲-Fe²⁺ 氧化法以及 DPPH· 自由基测定法, 研究虾青素和维生素 E 在抑制亚油酸的自氧化、清除羟自由基和 DPPH· 自由基的能力, 结果表明虾青素能有效地抑制亚油酸的自氧化性, 抑制能力明显高于维生素 E; 同时对羟自由基的清除率也高于维生素 E, 且在浓度为 50 μg/mL 时, 清除率可达 95.98%; 清除 DPPH· 自由基方面虽然略低于维生素 E, 但同样表现出较高的清除率, 当浓度为 80 μg/mL 时, 清除率为 97.0%。结论表明虾青素具有明显的抗氧化活性。

3 氨基酸、肽、蛋白质及酶类

3.1 牛磺酸 (Taurine)

牛磺酸是由半胱氨酸转化而来的一类含硫氨基酸, 它具有多种生理功能, 维持细胞内外渗透压平衡, 清除氧自由基, 抗脂质过氧化损伤, 调节细胞钙稳态, 直接膜稳定作用, 临床上牛磺酸用来治疗支气管炎, 急慢性肝炎, 心力衰竭, 子宫出血, 高血压等作用^[17]。海洋生物含有丰富的牛磺酸。目前, 国内外已将牛磺酸用在老年保健方面, 如抗衰老、抗动脉粥样硬化、抗心律失常以及改善充血性心力衰竭等, 国外已将牛磺酸应用到儿童保健食品中^[1]。

3.2 谷胱甘肽 (Glutathione, GSH)

谷胱甘肽主要存在于细胞内, 是细胞内重要的水溶性抗氧化剂, 是防止细胞损伤的重要活性物质。GSSH 在 GSH-Px 催化下以 NAD-DPH 或维生素 C 为供氢体, 还原成 GSH, GSH 可直接清除 ·OH、H₂O₂ 和 O_2^- ^[11]。

3.3 扇贝多肽 (polypeptides from Chlamys farreri, PCF)

PCF 是中国水产科学院黄海研究所将栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 分离纯化后得到的相对分子质量在 800~1000 Da 之间的多肽^[1]。黄绵庆^[18]等研究扇贝多

肽(PCF)对UVB损伤HaCaT细胞的抗氧化作用,结果表明PCF能提高HaCaT细胞内抗氧化酶SOD、GSH-Px、CAT活性,增强细胞总抗氧化能力并减少脂质过氧化产物MDA的产生。结论为PCF能增加细胞内抗氧化酶活性,抑制脂质过氧化反应,具有抗氧化作用。

3.4 Konbamides, Keramamides B, C, D^[1]

1977年Henry J等报道Konbamides是从日本海壳海绵Theonella sp属中提取的环肽,其主要活性是抑制超氧化物的产生。Keeramamides B, C, D也是从此种海绵中分离的海洋肽,该3种肽都具有中度细胞毒作用,能够抑制人神经系统O₂⁻的产生。

3.5 铜蓝蛋白(Ceruloplasmin, Cp)

铜蓝蛋白是重要的细胞外液抗氧化物质,它是含铜蛋白,有运输铜的功能,其抗氧化作用主要防止过渡金属Fe²⁺和Cu²⁺催化H₂O₂形成·OH,通过转变Fe²⁺为Fe³⁺以消除Fenton反应,而抑制脂质过氧化作用,同时,它还能直接清除O₂⁻。尤其当细胞外液O₂⁻浓度较高时,表现出类似SOD的作用以清除O₂⁻^[19]。Gutteridge^[20]等研究指出用过渡金属催化H₂O₂产生·OH的模型以脱氧核糖分解产生硫代巴比妥酸反应物(TBA)为指标,铜蓝蛋白·OH生成有明显的抑制作用。

3.6 金属硫蛋白(Metallothionein, MT)

金属硫蛋白是在真核生物胞质中发现的相对分子质量为6500Da的蛋白质,该蛋白所含的丰富的巯基是单线态氧和·OH的有效清除剂。金属硫蛋白清除羟自由基的能力和它的分子结构直接相关,巯基含量高则清除·OH的能力较高,其还原型半胱氨酸含量较高,具有较强的抗氧化作用^[21]。金属硫蛋白对缺血再灌注损伤产生的自由基也有清除作用,还能保护细胞膜免受自由基的损伤^[1]。

马飞煜^[22]等研究金属硫蛋白对快速老化痴呆小鼠海马抗氧化损伤的作用,结果表明,MT可以提高鼠脑的抗氧化能力,MT3的作用效果与浓度有关。相同浓度MT1和MT3,后者使海马抗氧化能力提高的作用更强。

3.7 超氧化物歧化酶(SOD)

1938年Mann和Keilin发现1种淡蓝色的含铜蛋白,到1969年Mccord和Fridovich发现该蛋白具有催化发生歧化反应的作用,称为超氧化物歧化酶,它的发现使自由基医学进入了一个新时代。

超氧化物歧化酶(SOD)是含有铜、锌、铁、锰等金属元素的一类蛋白质,其中Cu、Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD的意义较大。它能使超氧阴离子自由基(O₂⁻)发生歧化反应,生成过氧化氢(H₂O₂)和氧(O₂),是高效的自由基清除剂,是针对氧毒害反应为机体提供保护的酶类之一。海洋生物中富含SOD,用化学发光法在32种海藻,

10种节肢动物,7种软体动物,2种棘皮动物,49种鱼类,1种环节动物共100种海洋生物中检测到了SOD活性^[2]。

近年来,SOD在基础研究和应用研究上均取得实质性进步,主要表现在医疗临床、食品工业和化妆品中的广泛应用^[23]。随着对SOD研究的日益深入,SOD作为一种新型酶制剂,在医药、农业、保健品、食品等方面必将得到广泛的应用。

4 不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acid, PUFA)

二十碳四烯酸(AA)、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)等海洋不饱和脂肪酸,其易被氧化并可提高肝、脑组织SOD活性而发挥抗氧化作用。其代表是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),对人体的意义重大。

目前发现的PUFA产生菌全部是深海细菌和极地细菌^[24]。在海洋鱼类特别是中上层鱼类的油脂中含有大量的EPA和DHA,如鲑、远东拟沙丁鱼的鱼油中EPA、DHA的含量均在10%以上。在金藻类、甲藻类、硅藻类、红藻类、珊瑚藻、列膜藻、褐藻类、绿藻类及隐藻类等海藻中也含有大量EPA和DHA,其中珊瑚藻、列膜藻的含量高达50%以上。另外,藻状菌类也含有较高的EPA^[2]。徐继林^[25]等对一种重要的未知生物饵料微藻进行研究发现该微藻主要含有丰富的二十碳五烯酸(EPA),C14:0, C16:0, C16:1以及一定量的二十二碳六烯酸(DHA), C22:5(n-6)和C18不饱和脂肪酸。

5 其它海洋生物抗氧化活性物质

5.1 海藻多酚类物质

目前已在海藻中发现数种多酚类物质。研究表明褐藻多酚和红藻多酚都有抗氧化活性。海藻多酚类物质的抗氧化作用表现在:①清除O₂⁻和·OH;②拮抗H₂O₂的过氧化作用;③诱导超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活性。魏西玉^[26]等研究发现鼠尾藻和海黍子两种褐藻中高相对分子质量褐藻多酚具有较强的抗氧化活性,是一类潜在的海洋生物天然抗氧化剂。

5.2 硒和含硒化合物

硒是谷胱甘肽过氧化物酶的辅基,是维持该酶活性必不可少的。硒化合物既可清除脂质过氧化自由基中间产物,也可以修复机体抗氧化防御体系。海洋生物中,鲨鱼是含Se最高的一种。

5.3 其它

海洋生物中存在的其它抗氧化活性物质主要有:翅碱蓬提取物,贻贝多活素(Multibioactive substance of Mytilus edulis, MSM),Aldisin,多肽、辅酶Q(CoQ)、巯基化合物(如谷胱氨酸、谷胱甘肽)、磷脂、肝素、多巴、皮质类固醇、脱氢表雄醇、雌二醇、雌三醇、内酯、胆甾烯、尿

酸、血浆铜蓝蛋白等。其中部分物质已进行了深入研究,而部分物质的结构尚不清楚,只是进行了抗氧化的初步研究。

6 结束语

海洋生物活性物质的筛选,在 20 世纪 80 年代以抗菌、抗霉菌为多,20 世纪 60 年代中期 NCI 开始筛选抗肿瘤物质,20 世纪 70 年代以后扩大到抗病毒、免疫抑制、免疫赋活、强心、抗炎等作用物质的筛选。海洋生物抗氧化活性物质的研究起步较晚,目前仍处于初级阶段,经过研究的海洋生物只占很少一部分,其中一些海洋生物抗氧化剂的结构、作用机理及其应用价值尚待进一步探讨。海洋生物抗氧化活性物质是目前海洋生物活性物质研究的一个重要领域。我国海岸线上,海洋生物资源丰富,因此从海洋生物中开发新的抗氧化剂和抗衰老药物显得更为重要。

生物技术在海洋生物研究中的应用将为海洋生物抗氧化剂的研究开辟新的天地。目前美国、加拿大、日本等都已投入大量精力和财力来进行研究,我国也把海洋生物技术的研究列入国家高新技术研究发展计划。21 世纪是海洋的世纪,在开发和研究海洋生物抗氧化活性物质方面一定会有广阔的前景。

参考文献

- [1] 丁肇晓,韩华,王春波.海洋中抗氧化活性成分的研究进展[J].中国海洋药物,2003(1): 47-50.
- [2] 李俊,贾之慎.海洋生物抗氧化剂研究进展[J].天然产物研究与开发,1999,12(4): 92-96.
- [3] 陈恋.海洋生物多糖的高值化开发[J].食品与药品,2007,9(4A): 68-70.
- [4] 刘莺,刘新,牛筛龙.海洋生物活性多糖的研究进展[J].Herald of Medicine,2006,25(10): 1044-1046.
- [5] 左绍远,罗华君,朱振宇.螺旋藻多糖对糖尿病小鼠抗氧化能力的影响[J].药物生物技术,2001,8(1): 36-38.
- [6] 李羚,高云涛,戴云,等.螺旋藻及螺旋藻多糖体外清除活性氧及抗氧化作用研究[J].化学与生物工程,2007,24(3): 55-57.
- [7] 胡金凤,耿美玉,于广利,等.甲壳质衍生物 916 体外抗氧化作用的

研究[J].中国海洋药物,2001(1): 25-27.

- [8] 刘爱文,陈忻,杨敏婷.壳聚糖及其金属配合物体外抗自由基活性的研究[J].广东化工,2008,35(6): 30-32.
- [9] 杨方美,王林,胡秋辉.鼠尾藻多糖的制备及其抗氧化活性[J].食品科学,2005,26(2): 224-227.
- [10] 黄健,刘丽平,余颖,等.紫球藻胞外多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的调节作用[J].福建师范大学学报(自然科学版),2006,22(3): 77-80.
- [11] 张全斌,于鹏展,周革非,等.海带褐藻多糖硫酸酯的抗氧化活性研究[J].中草药,2003,34(9): 824-826.
- [12] 陆艳娟,李晓林,李晓梅,等.褐藻多糖硫酸酯对老龄小鼠抗氧化酶活性的实验研究[J].中国老年杂志,2006,26(9): 1220-1221.
- [13] 王丰玲,张英锋,郑向美,等.天然维生素 E 的制备、抗氧化机理及应用前景[J].化学教育,2007(12): 10-12.
- [14] 张岩岩,陈玉超.类胡萝卜素的研究进展[J].硅谷,2009(2): 8.
- [15] 裴凌鹏,惠伯棣,董福慧.叶黄素改善老龄大鼠抗氧化功能的研究[J].中央民族大学学报(自然科学版),2007,16(3): 197-201.
- [16] 陈晋明,王世平,马丽珍,等.虾青素抗氧化活性研究[J].营养学报,2007,29(2): 163-169.
- [17] 李秀萍,冯国良,高励聪.牛磺酸的治疗作用及机制研究进展[J].包头医学,2007,31(1): 26-28.
- [18] 黄绵庆,阎春玲,窦梅.扇贝多肽对 UVB 损伤 HaCaT 细胞的抗氧化作用[J].中国海洋药物杂志,2005,24(3): 26-28.
- [19] 常元勋,江景观.铜蓝蛋白的抗氧化特性[J].国外医学卫生学,1992(4): 193-195.
- [20] Eguchi H, Ikeda Y, Koyota S, et al. Oxidative damage due to copper ion and hydrogen peroxide induces G1eNA specific cleavage of an asn-linked Oligosaccharide [J]. J Biochem (Tokyo), 2002, 131(3): 477.
- [21] 赵红光,龚守良.金属硫蛋白抗氧化损伤作用及其机制[J].吉林大学学报(医学版),2005,31(2): 322-324.
- [22] 马飞煜,张昱,何雨.金属硫蛋白对快速老化痴呆小鼠海马抗氧化损伤作用的研究[J].中风与神经疾病杂志,2007,24(1): 59-60.
- [23] 林庆斌,廖升荣,熊亚红.超氧化物歧化酶(SOD)的研究和应用进展[J].化学世界,2006(6): 378-381.
- [24] 李鹏,高鹏,王健鑫.海洋微生物活性物质的研究[J].河北渔业,2009(2): 43-47.
- [25] 徐继林,严小军,朱艺锋.一种饲料微藻的脂肪酸甾醇分析及化学分类的探讨[J].海洋学报,2005,27(4): 121-126.
- [26] 魏玉西,徐祖洪.褐藻中高相对分子质量褐藻多酚的抗氧化活性研究[J].中草药,2003,34(4): 317-319.

Advances in Studies of Antioxidative Materials from Marine Living Things

LIU Rui-juan, ZHANG Chong-xi

(Marine College of Shandong University, Weihai, Shandong 264209)

Abstract: In this paper, the recent research situation and the kinds of antioxidative materials from marine living things were reviewed. Their antiodative effects and mechanisms were discussed. The results showed that there was a good prospect in searching antiodative materials from marine living things.

Key words: marine living things; antiodative; kinds; mechanisms