海洋棘皮动物多糖新药挖掘进展: 分离制备、结构解析及药理活性

刘梓栋[1], 符洁雯[1], 时　响[1,2], 张雪冬[1], 刘永宏[1], 袁清霞[1*], 赵龙岩[1*]

(1. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西海洋药物重点实验室, 广西 南宁 530200;
2. 西南大学药学院, 重庆 400715)

摘要: 海洋生物多糖为糖类创新药物研发的重要源泉。海参、海星、海胆、海蛇尾等棘皮动物资源丰富, 其含有的多糖结构独特、具有广泛且强效的药理活性, 为潜在的糖类药物先导化合物。虽然近些年海洋棘皮动物多糖的分离纯化、结构解析及活性评价等研究取得了一些重要进展, 如精细结构的阐明以及具有纳摩尔级活性的新颖化合物的发现等, 但在结构解析、构效关系及机制等方面, 仍存在一些问题和不足之处。本文系统综述了海洋棘皮动物多糖研究的进展和突破, 并提出了新的见解和建议, 旨在为低毒高效的海洋糖类创新药物研发提供重要参考。

关键词: 海洋棘皮动物; 海洋药物; 多糖; 寡糖; 构效关系

中图分类号: R284　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2025)07-2106-16

Advances in novel drug discovery from marine echinoderm polysaccharides: isolation and preparation, structural elucidation, and pharmacological activity

LIU Zi-dong[1], FU Jie-wen[1], SHI Xiang[1,2], ZHANG Xue-dong[1], LIU Yong-hong[1], YUAN Qing-xia[1*], ZHAO Long-yan[1*]

(*1. Guangxi Key Laboratory of Marine Drugs, Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China;　2. College of Pharmaceutical Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China*)

Abstract: Polysaccharides from marine organisms are an important source for researching and developing innovative carbohydrate-based drugs. Echinoderms, such as sea cucumber, starfish, sea urchin, and brittle star, are rich in resources. The polysaccharides from these species exhibit unique structural features and possess extensive, potent pharmacological activities, making them promising lead compounds for carbohydrate drug development. In recent years, significant progress has been made in the isolation and purification, structural analysis, and activity evaluation of marine echinoderm polysaccharides. Notably, the fine structures of several polysaccharides have been elucidated, and several novel polysaccharides with nanomolar-level activity have been identified. However, numerous challenges and deficiencies remain in the research areas related to structural elucidation, structure-activity relationships, and mechanisms of action. This review systematically summarizes the progress and breakthroughs in the study of marine echinoderm polysaccharides and provides new insights and suggestions, which may offer important reference information for the research and development of low-toxicity, high-efficiency marine carbohydrate drugs, thereby advancing the field of marine-derived pharmaceuticals.

Key words: marine echinoderm; marine drug; polysaccharides; oligosaccharide; structure-activity relationship

收稿日期: 2025-01-20;　修回日期: 2025-04-27.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82404503, 32160220, 82373788); 广西杰出青年科学基金 (2020GXNSFFA297005); 广西八桂青年拔尖人才项目.

*通讯作者 E-mail: zhaolongyan-dra@163.com; qingxiayuan@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0079

海洋覆盖了地球表面70%以上的面积, 其特殊的生态环境孕育着丰富的生物资源, 是海洋药物发现的重要源头, 已成为国际竞争的战略性资源。海洋生物体内含有大量结构新颖的糖类化合物, 分离或衍生化制备具有独特结构和强效活性的多糖已成为糖类创新药物研发的重要手段。众所周知, 20世纪80年代, 管华诗院士团队研发的我国首个海洋多糖药物藻酸双酯钠 (PSS) 已成功上市并广泛应用; 近些年, 海洋褐藻来源的多糖低聚物"甘露寡糖二酸" (GV-971) 也已获批用于治疗阿尔茨海默症[1]。可见, 结构规则的海洋多糖药物研发已取得重要进展, 但结构更复杂的海洋多糖研究仍待突破。

棘皮动物是广泛分布于全球海洋中的无脊椎动物, 资源丰富, 且在许多底栖动物群落中占据优势地位。现存的棘皮动物约有7 000种, 分为5个纲: 海百合纲、海星纲、蛇尾纲、海参纲和海胆纲[2]。其中, 海胆和海参因其丰富的营养价值而被视为传统滋补品; 此外, 海星、海蛇尾、海参及海胆在传统中药中也具有重要的药用价值。现代研究表明, 棘皮动物富含多种活性成分, 如多糖、皂苷、脑苷脂、脂肪酸、氨基酸等[3], 尤其是其多糖具有独特的化学结构和强效的药理活性, 如抗凝血、抗病毒、抗肿瘤、免疫调节等[4,5], 展现出广阔的利用前景。例如, 源自海参的岩藻糖化糖胺聚糖 (fucosylated glycosaminoglycan, FG) 以硫酸软骨素为主链, 含有硫酸岩藻糖 (fucose, Fuc) 侧链, 表现出强效的抗凝血活性[5,6]。基于FG衍生物的低聚物LFG-53作为一种新型抗凝新药, 已于2021年和2022年分别获得了美国FDA和中国NMPA临床研究批件 (批件号: IND153593; CXSL2200305), 并已进入临床研究阶段, 其突破性研究可为其他海洋糖类药物的研发提供范例[6]。目前, 从海洋棘皮动物中挖掘安全有效的多糖已成为新药研发的热点领域, 并取得了一些重要进展。本文系统综述了海洋棘皮动物多糖的制备、结构解析、活性研究等方面的最新进展, 总结了当前研究中存在的问题, 并提出了新的见解和建议, 以期为海洋糖类新药的研发提供参考, 推动该领域的进一步发展。

1 海洋棘皮动物多糖的提取、分离、纯化

海洋棘皮动物多糖结构复杂, 在生物体内常与蛋白质等通过共价键结合, 因此其分离过程较为繁琐。通常, 首先对样品进行预处理, 包括切割、粉碎和脱脂等步骤, 随后通过酶解或碱解破坏蛋白多糖中的蛋白质。提取的多糖上清液可通过醇沉法 (即加入乙醇) 获得总多糖沉淀物; 此外, 也可采用季铵盐沉淀法, 例如加入氯化十六烷基吡啶 (cetylpyridinium chloride, CPC) 或十六烷基三甲基溴化铵 (hexadecyl trimethyl ammonium bromide, CTAB), 沉淀酸性多糖。沉淀物随后加入高浓度的氯化钠或乙醇–碘化钠溶液, 可将CPC或CTAB与酸性多糖分离, 从而获得糖胺聚糖 (glycosaminoglycan, GAG) 等酸性黏多糖[7]。

通过醇沉法得到的总多糖需要进一步利用弱 (或强) 阴离子交换柱分离, 分为中性多糖和酸性多糖。对于具有相同离子强度但不同分子量的酸性多糖, 可采用分子排阻色谱法进行分离纯化。然而, 某些酸性多糖组分可能由两种或以上结构不同的多糖组成, 这些多糖的电荷数及分子量几乎相同, 难以通过色谱法分离。此时, 可根据不同种类多糖的结构特征, 选择性地降解某种多糖, 从而获得另一种多糖。例如, 在分离象牙参 (*Holothuria fuscopunctata*) 中的FG时, 发现其还含有其他电荷数及分子量相似的硫酸化多糖, 常规方法难以将其分离。鉴于FG主链中含有葡萄糖醛酸 (glucuronic acid, GlcA), 可采用选择性断裂多糖GlcA位点的β-消除法降解FG, 再通过超滤及强阴离子柱层析分离, 最终获得一种结构新颖的类硫酸角质素 (keratan sulfate, KS) 酸性多糖[8]。类似地, 在分离秘鲁乌参 (*Pattalus mollis*) 中的岩藻聚糖硫酸酯 (fucan sulfate, FS) 时, 发现其含有少量电荷数和分子量相似的FG, 通过脱酰脱氨基解聚法选择性地从FG主链的*N*-乙酰氨基半乳糖 (*N*-acetylgalactosamine, GalNAc) 位点断裂糖苷键降解FG, 再利用强阴离子交换柱层析, 可分离纯化出结构均一的FS[9]。

采用上述策略分离纯化的多糖纯度较高, 从而避免了在结构解析及活性研究中出现错误的分析结果和结论。因此, 如果在纯化过程中发现多糖具有异常的结构特征, 例如在单糖组成分析中, 分离的FG中Fuc含量较其他海参物种更高, 或分离的FS中含有糖醛酸或氨基糖, 可考虑采用β-消除法或脱酰脱氨基解聚法进行验证, 以避免得出错误的分析结果和结论。

2 海洋棘皮动物多糖结构研究

海洋棘皮动物多糖的结构解析有助于深入了解其功能特性, 是剖析构效关系和作用机制的基础, 也是进一步研发新药的关键。然而, 多糖结构复杂, 如何阐明其确切结构为化学1.1类新药研发的瓶颈性问题。目前海洋棘皮动物多糖的结构解析主要集中在一级结构, 常用的方法包括分光光度法、滴定法、高效液相色谱法、酶解分析、甲基化分析、一维/二维核磁共振 (one-dimensional/two-dimensional nuclear magnetic resonance, 1D/2D NMR)、高分辨质谱 (high resolution mass spectrometry, HRMS) 等, 可获得基本组成、硫酸/羧基摩尔比、分子量、单糖组成、二糖组成及比例、糖苷键连接方式、硫酸酯基等基团的连接位点等精细结构。

经过研究积累，目前已提出的各种海洋棘皮动物多糖的结构模型如图1所示。

2.1 海参多糖结构

随着选择性解聚方法的建立及寡糖片段分离技术的发展，海参多糖的结构研究得到更加广泛且深入的拓展。目前，在海参中发现的主要多糖包括FG、FS、KS和糖原等[6,8,10]。

经四十多年的研究，FG的结构已达成一定的共识：大多数物种海参FG主链主要由硫酸软骨素 (chondroitin sulfate, CS) 中的CS-E构成，其中GalNAc的C-4及C-6位均被硫酸酯基取代，所有GlcA的C-3位连接有不同硫酸化类型的Fuc单糖侧链，例如2,4-二-*O*-硫酸化Fuc (Fuc_{2S4S})、3,4-二-*O*-硫酸化Fuc (Fuc_{3S4S})、4-*O*-硫酸化Fuc (Fuc_{4S}) 等[6,11]。在20世纪80年代至90年代的早期研究中，有研究组提出巴西海参 (*Ludwigothurea grisea*) 和仿刺参 (*Apostichopus japonicus* 或 *Stichopus japonicus*) 来源的FG除了以上主要结构特征外，还存在由两个硫酸化Fuc构成的二糖侧链，如*L*-Fuc_{3S}-α1,2-*L*-Fuc_{3S}、*L*-Fuc_{3S}-α1,4-*L*-Fuc_{3S}、*L*-$Fuc_{2R/4R}$-α1,3-*L*-$Fuc_{2R/4R}$ (其中R为H或SO_3^-)[12,13]。这些结构特征是基于原型FG，通过甲基化、部分酸水解和NMR等方法推测得出的，仍需进一步验证。2019年，Guan等[14]通过对脱酰脱氨基解聚产物的寡糖进行NMR解析，推断出仿刺参FG的结构，并纠正了早期的结构假设，明确该物种的FG仅含有Fuc_{2S4S}、Fuc_{3S4S}和Fuc_{4S}等单糖侧链，而不存在二糖侧链。巴西海参FG的确切结构也在2022年由Yin等[15]通过研究β-消除解聚产物中寡糖的结构得到纠正，其FG含有的二糖侧链为*D*-$GalNAc_{R1}$-α1,2-*L*-Fuc_{R2}，其中R1为4-*O*或4,6-二-*O*-硫酸酯基、R2为3-*O*-或3,4-二-*O*-硫酸酯基。

近年来，采用“bottom up”策略纠正了多种海参FG的结构。该策略利用糖苷键选择性解聚技术，对多糖的各种基团无影响，从解聚产物中分离得到纯品寡糖化合物，通过NMR及HRMS等方法解析其确切结构，从而推断原型多糖的结构特征，结果准确且可信度高。例如，Zhao等[11]首次采用该方法阐明了花刺参 (*Stichopus variegatus*) 原型多糖的确切结构。此后，该策略在其他海参物种的FG结构研究中也取得了重要进展，如蛇目白尼参 (*Bohadschia argus*)、大西洋海参 (*Holothuria coluber*)、乌皱辐肛参 (*Actinopyga miliaris*)、白腹海参 (*Holothuria albiventer*) 等来源FG结构均得到了准确的解析[16-18]。通过解析纯品寡糖的结构，从而确认了海地瓜 (*Acaudina molpadioides*)、梅花参 (*Thelenota ananas*)、黑乳海参 (*Holothuria nobilis*)、花刺参 (*Stichopus monotuberculatus*)、*Phyllophorella kohkutiensis* 和墨西哥海参 (*Holothuria mexicana*) 等来源的FG含有GalNAc-α1,2-Fuc_{3S4S}、$GalNAc_{4S6S}$-α1,2-$Fuc_{3S(4S)}$、$GalNAc_{(4S)6S}$-α1,2-Fuc_{3S}、$Gal_{4S(6S)}$-α1,2-Fuc_{3S}、$GalNAc_{4S}$-α1,2-Fuc_{3S4S}等新型二糖侧链[19-24]。此外，通过β-消除解聚资源较丰富、非食用性的方柱翼手参 (*Colochirus quadrangularis*) FG制备的分子量均一的寡糖混合物的结构解析，可推断某些海参物种还可能

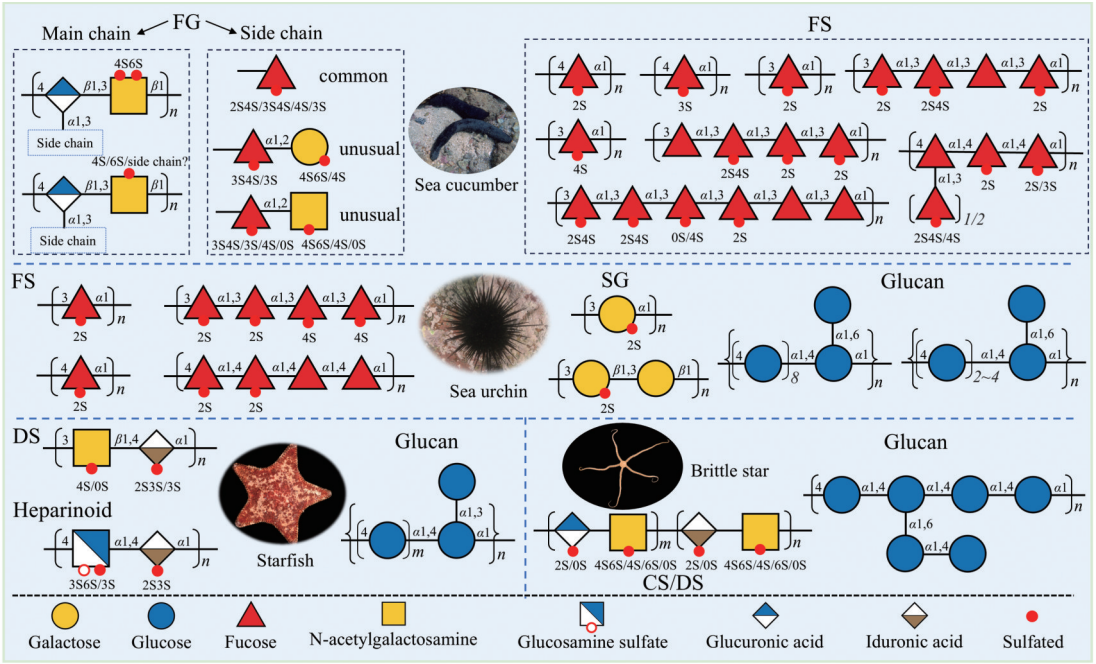


Figure 1 Structural features of polysaccharides from marine echinoderms. FG: Fucosylated glycosaminoglycan; FS: Fucan sulfate; SG: Sulfated galactans; DS: Dermatan sulfate; CS: Chondroitin sulfate

含有特异的侧链如Fuc_{3S}、Fuc_{2S3S4S}等, Gal_{3S4S}可能通过α1,3糖苷键连接于Fuc_{2S4S}形成新型的二糖侧链, 但尚需进一步分离纯品寡糖来确认[25]。

然而, 近十年来, 仍有研究者采用NMR直接测定原型FG的结构, 并提出某些海参物种*Eupentacta fraudatrix*、白尖海参(*Holothuria polii*)、*Holothuria tubulosa*、*Hemioedema spectabilis*、玉足海参(*Holothuria leucospilota*)的主链GlcA的C-3位被硫酸化修饰但未连接侧链, 或GalNAc的C-4或C-6位未被硫酸酯基取代, 或连接有岩藻二糖、岩藻三糖、岩藻四糖甚至岩藻九糖侧链[26-29]。由于海参FG分子量较大, 通常在50 kDa左右, 直接采用NMR分析原型FG或其解聚产物时, 高分子量及混合物的性质导致核磁图谱信号重叠严重, 无法准确判断其连接方式及硫酸化位点, 从而导致结构模型推测错误。此外, 分离纯化的FG中可能含有其他电荷数相近、分子量相似的多糖(如FS), 这可能导致侧链存在形式的误判, 进而提出更长的Fuc侧链可能连接于CS主链上。因此, 近些年提出的具有特殊结构的海参FG仍需采用更可靠的结构解析方法进行验证, 以解决海参FG结构存在的争议性问题。目前尚未发现FG水解酶, 但糖苷键选择性的解聚方法能够分离获得纯品寡糖化合物, 其核磁信号重叠少且清晰可辨, 能够准确反映原型FG的确切结构特征。然而, 该"bottom up"策略在结构解析方面仍待完善: 例如, 某一聚合度的寡糖(如β-消除解聚得到的五糖或八糖)可能由数种不同硫酸取代位点的寡糖组成。虽然对分离的主要纯品寡糖进行结构解析能够准确揭示原型FG的主要结构特征, 但在多次分离过程中, 含量较低的寡糖难免被遗漏, 这可能导致结构信息的不完整性。此外, 脱酰脱氨基解聚可能会导致含乙酰氨基二糖侧链的丢失, 因此, 对于可能含有此类侧链的FG, 其结构确证仍需借助β-消除法等其他方法制备寡糖以进一步确认[30,31]。海参FG的结构具有明显的物种依赖性, 不同物种的海参FG在结构上存在显著差异, 尤其是在侧链的存在方式(如单糖或二糖)和硫酸化方式方面。鉴于此, 未来仍需从其他的海参物种中挖掘更多结构新颖的寡糖, 并且复杂海参FG的完整且确切的结构解析也需进一步深入研究。

海参中还存在一种含量丰富的多糖为FS, 虽然其仅由Fuc组成, 但其连接方式及硫酸化位点随海参物种的不同而存在显著差异。研究表明, 海参来源FS主要由Fuc通过α1,3或α1,4连接形成线性结构, 常见硫酸酯基取代位点包括C-2、C-3和C-4等[10,32], 目前已发现的结构高度规则的FS包括蛇目白尼参、象牙参、糙刺参和梅花参来源的FS, 分别由$[-\alpha1,4\text{-}L\text{-}Fuc_{3S}]_n$、$[-\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S}-]_n$和$[-\alpha1,4\text{-}L\text{-}Fuc_{2S}-]_n$等重复结构单元构成[10,33]。此外, 还有FS由较规则的α1,3连接的四糖重复结构单元组成, 如白尖海参、黄刺参(*Holothuria hilla*)和墨西哥海参等来源FS分别由$[-L\text{-}Fuc_{2S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S4S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S}-]_n$和$[-L\text{-}Fuc\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S4S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S}-]_n$构成的重复结构单元组成[34-36]。结构不规则的FS主要体现在硫酸酯基连接位点的任意性、糖苷键连接的多样性以及侧链存在形式的复杂性。例如, 白肛海地瓜(*Acaudina leucoprocta*)、黄玉参(*Stichopus herrmanni*)来源FS主要含有α1,3连接的*L*-Fuc重复结构单元, 具有多种硫酸化方式(如2S、2S4S、4S、0S), 其中$L\text{-}Fuc_{2S4S}$分布具有任意性[37,38]; 仿刺参的FS主要含有*L*-Fuc-α1,4-*L*-Fuc二糖侧链的五糖重复结构单元组成, 但甲基化分析显示其糖苷键比例与五糖重复结构单元不一致, 表明其糖苷键连接具有不规则性[39]; 白腹海参的FS由较规则的$[-L\text{-}Fuc_{2S4S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S4S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{4R}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc_{2S}\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc\text{-}\alpha1,3\text{-}L\text{-}Fuc-]_n$六糖重复结构单元组成, 其中R基约30%为硫酸酯基, 约70%为羟基[40]; 象牙参的FS除了含有规则的结构外, 还含有一种α1,3和α1,4糖苷键交替连接的不规则结构, 而*Thyonella gemmata*来源的FS中同时存在α1,2和α1,3两种糖苷键[32,41]。秘鲁乌参FS的主链主要含有α1,4-*L*-Fuc_{2S}结构单元, 还含有少量的α1,4-*L*-Fuc_{3S}结构单元, 其侧链包括不同硫酸化形式的单糖$L\text{-}Fuc_{(2S)4S}$和二糖$L\text{-}Fuc_{(2S)4S}\text{-}\alpha1,3/4\text{-}L\text{-}Fuc_{(4S)}$侧链, 连接于主链的C-3位[9]。

海参FS的结构研究通常采用脱硫酸酯基后结合甲基化分析及NMR图谱对原型多糖进行结构解析的方法。近些年来, "bottom up"策略发挥了重要作用, 例如通过糖苷键高选择性的自由基解聚降解FS, 分离纯化得到寡糖片段, 对寡糖片段进行NMR图谱解析, 可以获得确切的结构, 或者采用部分酸水解降解FS获得寡糖片段, 通过解析寡糖片段的结构来推断FS的整体结构, 这些方法都取得了重要进展[9,38,42]。近些年, 能够水解α1,3糖苷键FS水解酶的发现对含有该类型糖苷键的海参FS的确切结构解析发挥了重要作用, 例如通过过表达α1,3-FS水解酶阐明了黄刺参及墨西哥海参FS的确切结构[35,36]。尽管FS的结构研究已经取得了重要进展, 但仍有不少问题有待解决。例如, 同一物种的海参可能含有不同结构类型的FS, 若不能实现分离作为一种FS进行解析可能导致结构的误判; 大多数FS分子量大, 导致核磁图谱信号弱或重叠严重, 从而引起结构误判; 采用脱硫酸酯基–甲基化分析结构时, 完全脱硫难以实现且可能导致多糖降解严重, 从而造成糖苷键及硫酸化位点的误判; 部分酸水解及过氧

化解聚可能造成硫酸酯基脱落, 进而导致硫酸化位点的误判; FS水解酶虽然具有糖苷键选择性且能准确解析结构, 但酶具有专一性, α1,3糖苷键FS水解酶仅能用于解析含有该类型糖苷键的FS, 而其他类型糖苷键(α1,2或α1,4)的FS的水解酶仍有待发现。

除了海参主要的FG及FS外, 某些物种的海参中还发现了其他氨基多糖 (AG), 由*N*-乙酰氨基葡萄糖 (*N*-acetylglucosamine, GlcNAc)、GalNAc、半乳糖 (galactose, Gal) 和Fuc组成, 但不含糖醛酸[8,32]。采用脱酰脱氨基解聚、自由基解聚、部分酸水解等解聚方法解聚AG, 分离寡糖片段并通过解析寡糖片段的结构来推断AG的结构特征。该多糖具有由β-*D*-GalS-1,4-*D*-GlcNAc$_{6S}$二糖构成的主链, α-GalNAc$_{4S6S}$-α/β1,2-Fuc$_{3S}$二糖可能为侧链, 但具体连接位点尚未澄清[8]。

此外, 海参中还存在动物体内常见的由葡萄糖 (glucose, Glc) 构成的糖原类多糖, 其主链为α1,4连接的Glc构成, 少量的α-Glc单糖侧链连接于主链的C-6位, 在秘鲁乌参等中均有发现并报道[43], 但由于糖原一般是为动物提供能量的物质, 其结构及功效应用等的研究报道非常少。Zhang等[44]采用单糖组成分析及1D/2D NMR图谱解析了海参葡聚糖的结构, 该多糖的Glc和Fuc的含量分别约为92%和8%, 但核磁图谱中未见Fuc的信号, 其连接方式等尚未进一步研究。该少量Fuc的存在可能是FS等的污染导致, 而非通过共价键连接于葡聚糖中, 因此这一问题仍有待进一步澄清。

2.2 海胆多糖结构

海胆中的多糖成分丰富多样, 主要包括FS、硫酸皮肤素 (dermatan sulfate, DS)、硫酸半乳聚糖 (sulfated galactans, SG)、葡聚糖和葡甘露聚糖等。其中, 未受精海胆卵表面的卵胶膜富含SG和FS。海胆卵胶膜中的FS是一种相对规则的线性多糖, 通常由重复的结构单元通过α1,3或α1,4糖苷键连接而成, 硫酸酯基取代位点因物种而异[45]。

例如, 绿海胆 (*Strongylocentrotus droebachiensis*) 的卵胶膜中存在两种不同结构的FS。其中一种与黑海胆 (*Arbacia lixula*) 来源的FS结构相同, 由四糖重复结构单元 [-*L*-Fuc$_{2S}$-α1,4-*L*-Fuc$_{2S}$-α1,4-*L*-Fuc-α1,4-*L*-Fuc-]$_n$构成; 另一种则由更规则的重复结构单元 [-α1,4-*L*-Fuc$_{2S}$-]$_n$构成[45,46]。此外, 在海胆*Strongylocentrotus pallidus*中, FS为四糖重复结构单元 [-*L*-Fuc$_{2S}$-α1,3-*L*-Fuc$_{2S}$-α1,3-*L*-Fuc$_{4S}$-α1,3-*L*-Fuc$_{4S}$-]$_n$构成[45]。而*Lytechinus variegatus*来源的FS具有不同硫酸取代方式, 其具有四糖重复结构单元 [-*L*-Fuc$_{2S}$-α1,3-*L*-Fuc$_{4S}$-α1,3-*L*-Fuc$_{2S4S}$-α1,3-*L*-Fuc$_{2S}$-]$_n$[47]。除了这些具有四糖重复结构单元的FS外, 某些海胆物种还含有与海参FS结构相似的高度规则的多糖。例如, 巨紫球海胆 (*Strongylocentrotus franciscanus*) 的FS与黄玉参的FS主要结构一致, 由单糖重复结构单元 [-α1,3-*L*-Fuc$_{2S}$-]$_n$组成[48]。与海参FS相比, 目前已研究的海胆FS中未发现含有Fuc$_{3S}$, 且尚未发现同一糖链中同时存在两种及以上不同糖苷键连接方式的FS。然而, 海胆物种丰富, 将来在其他海胆物种中或许会发现具有不同硫酸化位点及糖苷键连接方式的FS。

SG的结构也表现出显著的多样性, 其糖苷键连接方式及硫酸化位点会因物种和生长发育阶段的不同而有所差异。Alves等[46,49]在海胆*Echinometra lucunter*中发现了一种2位硫酸化并通过α1,3糖苷键连接的SG, 在后续研究中, 该研究团队还在*Glyptocidaris crenularis*发现了通过β1,3糖苷键连接的SG, 其结构单元为 [-*D*-Gal$_{2S}$-β1,3-*D*-Gal-]$_n$二糖重复结构单元。此外, 研究人员还发现, 在海胆卵巢中首先合成的是α1,2-Gal$_{2S6S}$, 当其释放到卵胶膜后, 6位硫酸酯基被剪切掉, 形成以α1,2-Gal$_{2S}$为结构单元的糖链, 但目前尚不清楚6位硫酸酯基是在进入卵胶膜之前还是之后被去除[50]。借助硫酸软骨素酶酶解等方法, 研究者发现这些硫酸多糖在海胆受精后不久便会消失, 而在胚胎发育24 h后, 会生成大量的DS, 这些DS主要在GalNAc的C-4及C-6位发生硫酸酯基取代, 并具有较长的链长。成年后, DS的C-4位硫酸酯基取代则会减少[51]。

海胆葡聚糖也具有常见的动物糖原的基本结构特征。例如, 光棘球海胆 (*Strongylocentrotus nudus*) 卵中的葡聚糖, 其主链每9个糖残基在C-6位连接1个Glc单糖侧链[52]。该研究团队还从该物种海胆中分离得到了另外一种葡聚糖, 甲基化分析结果推测其主链由1,4-Glc构成, 侧链为1,3-Glc, 并连接于主链的C-3位。但由于证据有限, 目前尚不能确定Glc的构型、侧链的链长及分支度[53]。在马粪海胆 (*Hemicentrotus pulcherrimus*) 中, 其葡聚糖主链每3~5个糖残基在C-6位连接一个Glc单糖侧链, 还可能存在极少量 (6.2%) 的α-GlcA单糖侧链连接于主链的C-6位。该研究团队进一步将该组分分为8个组分, 结构分析显示: 其中某些组分还含有极少量 (< 5%) 的甘露糖 (mannose, Man)、核糖 (ribose, Rib)、Gal等单糖侧链, 可能连接于主链的C-6位[54,55]。然而, 以往关于海胆葡聚糖的结构研究仍需进一步完善和纠正, 例如, 1,3-Glc侧链未采用1D/2D NMR图谱进行解析和验证, 其确切结构尚不清楚; α-GlcA、α-*D*-Man、Rib和Gal作为侧链存在的证据仍不充分, 因为微量的糖残基在其核磁图谱中的信号极其微弱或缺失, 难以明确。据以往研究, 甲基化分析时α-GlcA会发生β-消除而破坏, 不会显示相关信息, 通

常需要将糖醛酸进行还原后再进行分析[56], 此外, α-*D*-Man、Rib 和 Gal 等的甲基化分析质谱图未提供, 因此也无法令人信服。一般来说, 糖原等葡聚糖可以被淀粉酶水解, 若存在特殊的结构特征, 则可以很容易地采用“bottom up”策略进行明确的解析。

此外, 据报道, 海胆中还可能存在其他结构类型的多糖。如 Yang 等[57]在虾夷马粪海胆 (*Strongylocentrotus intermedius*) 生殖腺中发现了一种新颖的甘露聚糖。甲基化分析显示, 该甘露聚糖主要由 α-1,4-*D*-Man、α-1, 3-*D*-Man、α-1, 6-*D*-Man 和末端 α-*D*-Man 组成。HMBC 图谱推测其可能由 α-1,4-*D*-Man 和 α-1,3-*D*-Man 交替连接构成主链, 微量的 GlcNAc 可能位于糖链的末端, 此外还含有微量的 Glc。然而, 由于该多糖的核磁图谱信号重叠严重, 信号归属存在较多问题, 其结构仍有待进一步澄清。

2.3 海星多糖结构

海星作为一种丰富的海洋资源, 拥有约 1 600 种不同的种类, 其体内富含多种类型的多糖, 包括 GAG、葡聚糖等。近年来, 俄罗斯科学院的研究团队在海星 *Lysastrosoma anthosticta* 和 *Lethasterias fusca* 中发现了结构新颖的 GAG, 这些 GAG 在结构上与 DS 和肝素 (heparin, HP) 类似, 其主要由 *N*-硫酸葡萄糖胺 (glucosamine sulfate, GlcNS)、艾杜糖醛酸 (iduronic acid, IdoA) 和 GalNAc 组成。具体而言, *L. anthosticta* 中的类 DS 主链由二糖重复单元 [*D*-GalNAc$_{4R}$-β1,4-*L*-IdoA$_{2S3S}$-α1,3-]$_n$ (R 为 SO_3^-或 H) 构成, 而类 HP 则包含两种二糖重复结构单元, 分别为[*D*-GlcN$_{NS3S6S}$-α1,4-*L*-IdoA$_{2S3S}$-α1,4-]$_n$和 [*D*-GlcN$_{NS3S}$-α1,4-*L*-IdoA$_{2S3S}$-α-1,4-]$_n$。相比之下, *L. fusca* 中的类 DS 结构单元为 [*D*-GalNAc$_{4R}$-β1,4-*L*-IdoA$_{2R3S}$-α-1,3-]$_n$ (R 为 SO_3^-或 H), 类 HP 仅有一种二糖重复结构单元: [*D*-GlcN$_{NS3S6S}$-α1,4-*L*-IdoA$_{2S3S}$-α-1,4-]$_n$[58,59]。

在研究过程中, 该团队对分离的海星 GAG 组分进行脱硫酸化或羧基还原处理, 随后利用 NMR 图谱进行结构解析。这种策略显著增强了核磁图谱的信号强度和分辨率, 使得结构解析更为清晰, 从而提高了结构推断的可信度。此外, 海星体内可能存在其他类型的 GAG。例如, Li 等[60]从海星中纯化得到一种多糖, 其单糖组成分析显示含有己糖醛酸、氨基己糖及 Fuc, 摩尔比约为 1∶1∶1。然而, 该多糖的具体结构尚未得到深入研究, 尤其是其是否含有与海参 FG 结构类似的多糖, 仍值得进一步探讨。

除了 GAG, 海星体内也存在类似糖原的葡聚糖。据报道, 多棘海盘车 (*Asterias amurensis*) 内脏中含有一种分子量为 2 708 kDa 的葡聚糖, 主链由 α1,4-Glc 构成, 并含有 β1,3,4-Glc 糖残基, 这表明其 α-Glc 侧链可能连接于主链的 C-3 位[61]。此外, 罗氏海盘车 (*Asterias rollestoni*) 中也发现了一种葡聚糖, 其主链主要由 α1,3-Glc 构成, 并含有少量的 β1,3-Glc 葡聚糖[62]。然而, 该文献摘要中 α1,3-Glc 和 β1,3-Glc 书写存在颠倒, 且仅通过信号微弱的 HMBC 谱图推断其连接方式, 尚不足以作为严谨的结构证据, 因此其结构仍需深入研究和确认。此外, 该研究中的单糖组成分析发现了一种名为 SF-2 的组分, 其主要含有 Glc, 还含有少量 Man, 推测可能为甘露葡聚糖硫酸酯。该组分表现出较强的抗氧化活性, 但其精细结构尚未研究, 值得进一步探讨。

2.4 海蛇尾多糖结构

与其他棘皮动物相比, 海蛇尾多糖的研究报道相对较少, 但其研究历史却较为悠久。1955, Fontaine 等[63]在《Nature》上首次报道海蛇尾中存在高度硫酸化的酸性粘多糖, 其理化性质与 HP 类似。然而, 在此之后, 关于海蛇尾多糖结构的深入研究却鲜有报道。直至 2014 年, Ramachandra 等[64]从四种海蛇尾 *Amphiura filiformis*、*Amphiura chiajei*、*Ophiothrix fragilis* 和 *Ophiocomina nigra* 中提取分离出 CS/DS 类多糖。他们通过不同的硫酸软骨素酶处理, 并对二糖组成进行分析, 结果显示这些 GAG 中均含有大量二硫酸酯基取代的不饱和二糖 Δ2S4S, 而无硫酸酯基的不饱和二糖 Δ0S 及二硫酸取代的不饱和二糖 Δ4S6S 含量均较低 (< 5%)。不同物种的 Δ2S4S 摩尔百分比均大于 25%, 但其他不饱和二糖单元在不同物种中的含量差异显著。例如, 在 *O. fragilis* 中, 单硫酸取代二糖 Δ2S 含量高达 40%, 而在 *A. filiformis* 中, 三硫酸取代的不饱和二糖 Δ2S4S6S 的含量高达 40%。进一步研究表明, 在 *A. filiformis* 中, 其腕的 Δ2S4S6S 含量较高, 而体盘中则含较多的 Δ2S4S[65]。尽管以往的研究已经探讨了海蛇尾 GAG 的二糖组成类型, 但二糖连接顺序等仍需深入研究。此外, 其他物种的海蛇尾是否含有结构新颖的 GAG, 也有待进一步探索。

海蛇尾中还含有中性糖。Ma 等[66]从海蛇尾 (*Trichaster palmierus*) 中提取得到一种葡聚糖, 其主链由 α-1,4-Glc 糖苷键连接而成, 每 4 个 Glc 片段中, 都有 1 个二糖侧链 (Glc-α1,4-Glc) 连接在主链的 C-6 位。由此可见, 不同棘皮动物来源的糖原类葡聚糖在结构特征上存在一定的差异性。因此, 对于具有新颖结构的葡聚糖及生物活性的研究, 仍具有重要的科学价值和广阔的研究前景。

本文汇总了已研究的海洋棘皮动物各物种来源多糖的具体结构信息 (表 1),可为后续的结构深入研究及阐明提供参考。

Table 1 Structural information of polysaccharides from marine echinoderms. Mw: Molecular weight; HexA: Hexuronic acid (either GlcA or IdoA); ΔHexA: 4,5-Unsaturated hexuronic acid; Man: Mannose; GlcNAc: *N*-Acetylglucosamine; −: Not mentioned or absent

Species	Scientific name	Mw/kDa	Polysaccharide backbone	Polysaccharide side chain	Ref.
Sea cucumber	*Stichopus variegatus*	−	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$	[11]
	Stichopus japonicu	76.4	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$	[14]
	Ludwigothurea grisea	47.24	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, Fuc$_{3S}$, GalNAc$_{4S(6S)}$-α1,2-Fuc$_{3S(4S)}$	[15]
	Bohadschia argus	70.13	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$	[16]
	Holothuria coluber	49.48	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, Fuc$_{3S}$	[17]
	Actinopyga miliaris	55.78	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{3S4S}$	[18]
	Holothuria albiventer	47.2	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$	[18]
	Acaudina molpadioides	51.7	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{4S}$, GalNAc-α1,2-Fuc$_{3S4S}$	[19]
	Phyllophorella kohkutiensis	42.53	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, GalNAc-α1,2-Fuc$_{3S4S}$	[20]
	Holothuria nobilis	55.96	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, GalNAc$_{4S(6S)}$-α1,2-Fuc$_{3S}$	[21]
	Thelenota ananas	−	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{4S}$, Gal$_{4S(6S)}$-α1,2-Fuc$_{3S}$	[22]
	Stichopus monotuberculatus	76.8	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, GalNAc$_{4S}$-α1,2-Fuc$_{3S4S}$	[23]
	Holothuria mexicana	55.47	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, GalNAc$_{(4S)(6S)}$-α1,2-Fuc$_{(3S)(4S)}$	[24]
	Eupentacta fraudatrix	−	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S(6S)}$-β1-, -4-GlcA$_{2S3S}$-β1,3-GalNAc$_{6S}$-β1-	Fuc$_{3S4S}$, Fuc-α1,2-Fuc$_{3S4S}$	[26]
	Holothuria polii	47.00	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{(4S)(6S)}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, [Fuc$_{2S4S}$-α1,3]$_n$-Fuc$_{4S}$-α1- (n = 1−3)	[27]
	Holothuria tubulosa	42.00	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{(4S)(6S)}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, [Fuc$_{3S4S}$-α1,3]$_n$-Fuc$_{4S}$-α1- (n = 1−3)	[27]
	Hemioedema spectabilis	44.1	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{(4S)(6S)}$-β1-, -4-GlcA$_{3S}$-β1,3-GalNAc-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$	[28]
	Holothuria floridana	67.9	-4-GlcA-β1,3-GalNAc$_{4S6S}$-β1-	Fuc$_{2S4S}$, Fuc$_{3S4S}$, Fuc$_{4S}$, GalNAc$_{4S}$-α1,2-Fuc$_{3S4S}$	[31]
	Holothuria fuscopunctata	I: 470.6, II: 36.8	I: [-3-α-Fuc$_{2S4S}$-α1,4-Fuc-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,4-Fuc-1-]$_n$, II: [-4-α-Fuc$_{3S}$-1-]$_n$	−	[32]
	Bohadschia argus	I: 501.1, II: 35.05	I: [-3-α-Fuc$_{4S}$-α1,3-Fuc-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{(2S)}$-α1,3-Fuc-1-]$_n$, [-3-α-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{(2S)}$-1-]$_n$, II: [-4-α-Fuc$_{3S}$-1-]$_n$	−	[33]
	Holothuria polii	103.1	[-3-α-Fuc-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S4S}$-1-]$_n$	−	[34]
	Holothuria hilla	197.8	[-3-α-Fuc-α1,3-Fuc$_{2S4S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-1-]$_n$	−	[36]
	Acaudina leucoprocta	593	[-3-α-Fuc$_{(2S)(4S)}$-1-]$_n$	−	[37]
	Stichopus herrmanni	790.8	[-3-α-Fuc$_{2S(4S)}$-1-]$_n$	−	[38]
	Apostichopus japonicus	1 970	[-3-α-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-1-]$_n$	Fuc-α1,3-Fuc-α1,4-	[39]
	Holothuria albiventer	> 2 000	[-3-α-Fuc$_{2S4S}$-α1,3-Fuc$_{2S4S}$-α1,3-Fuc$_{(4S)}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc-α1,3-Fuc-1-]$_n$	−	[40]
	Thyonella gemmata	383.3	[-3-α-Fuc$_{2S4S}$-α1,2-Fuc$_{4S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-1-]$_n$	−	[41]
	Pattalus mollis	5.1	[-Fuc$_{2S}$-α1,4-(Fuc$_{2S/3S}$-α1,4)$_x$-]$_n$	Fuc$_{(2S)4S}$-α1,3/4-Fuc$_{(4S)}$-, Fuc$_{(2S)4S}$-	[9]
Sea urchin	*Strongylocentrotus droebachiensis*	−	I: [-4-α-Fuc$_{2S}$-α1,4-Fuc$_{2S}$-α1,4-Fuc-α1,4-Fuc-1-]$_n$, II: [-4-α-Fuc$_{2S}$-1-]$_n$	−	[45]
	Strongylocentrotus pallidus	−	[-3-α-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{4S}$-α1,3-Fuc$_{4S}$-1-]$_n$	−	[45]
	Arbacia lixula	−	[-4-α-Fuc$_{2S}$-α1,4-Fuc$_{2S}$-α1,4-Fuc-α1,4-Fuc-1-]$_n$	−	[46]
	Lytechinus variegatu	290	I: [-3-α-Fuc$_{2S}$-α1,3-Fuc$_{4S}$-α1,3-Fuc$_{2S4S}$-α1,3-Fuc$_{2S}$-1-]$_n$, II: [-3-α-Fuc$_{4S}$-1-]$_n$	−	[47]
	Strongylocentrotus franciscanus	−	[-3-α-Fuc$_{2S}$-1-]$_n$	−	[48]
	Echinometra lucunter	−	[-3-α-Gal$_{2S}$-1-]$_n$	−	[46]
	Glyptocidaris crenularis	−	[-3-β-Gal$_{2S}$-β1,3-Gal-1-]$_n$	−	[49]

Continued

Species	Scientific name	Mw/kDa	Polysaccharide backbone	Polysaccharide side chain	Ref.
	Strongylocentrotus purpuratus	–	[-4-α-IdoA-β1,3-GalNAc$_{(4S)6S}$-1-]$_n$	–	[51]
	Strongylocentrotus nudus	1 950	[-4-α-Glc-1-]$_n$	Glc	[52]
	Hemicentrotus pulcherrimus	29 960	[-4-α-Glc-1-]$_n$	Glc	[54]
	Strongylocentyotus intermedius	4.4	[-4-α-Man-α1,4-α-Man-1,3-α-Man-1,4-α-Man-1-GlcNAc]$_n$	Man	[57]
Starfish	*Lysastrosoma anthosticta*	–	[-3-β-GalNAc$_{(4S)}$-α1,4-IdoA$_{2S3S}$-1-]$_n$	–	[58]
	Lysastrosoma fusca	–	[-3-β-GalNAc$_{(4S)}$-α1,4-IdoA$_{(2S)3S}$-1-]$_n$	–	[59]
	Lysastrosoma anthosticta	–	[-4-α-GlcN$_{NS3S(6S)}$-α1,4-IdoA$_{2S3S}$-1-]$_n$	–	[58]
	Lysastrosoma fusca	–	[-4-α-GlcN$_{NS3S6S}$-α1,4-IdoA$_{2S3S}$-1-]$_n$	–	[59]
	Asterias amurensis	2 708	[-4-α-Glc-1-]$_n$	–	[61]
Brittle star	*Amphiura filiformis*	–	ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{4S}$ (27.2%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{6S}$ (24.4%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{4S6S}$ (41.7%)	–	[64]
	Ophiothrix fragilis	–	ΔHexA-GalNAc$_{4S}$ (12.1%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc (40.9%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{4S}$ (33.8%)	–	[64]
	Ophiocomina nigra	–	ΔHexA-GalNAc$_{4S}$ (13.8%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc (23.1%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{4S}$ (43.6%)	–	[64]
	Amphiura chiajei	–	ΔHexA$_{2S}$-GalNAc (10.9%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{4S}$ (52.5%) ΔHexA$_{2S}$-GalNAc$_{6S}$ (15.9%)	–	[64]
	Trichaster palmiferus	165.5	[-4-α-Glc-1-]$_n$	Glc-α1,4-Glc-	[66]

3 海洋棘皮动物多糖生物活性

海洋棘皮动物多糖具有广泛的药理学活性, 包括抗凝血与抗血栓、抗肿瘤、免疫调节和抗病毒等 (图2)。近年来, 相关研究不断深入, 进一步凸显了海洋棘皮动物多糖的学术和应用价值。

3.1 抗凝血活性

HP作为常用抗凝剂, 存在出血风险、血小板减少、过敏反应和高钾血症等不良反应[67], 还可能受到非洲猪瘟病毒、朊病毒等病原体污染。因此, 从海洋生物中挖掘低不良反应的HP替代物一直是抗凝新药研究的热点。许多海洋生物来源硫酸化多糖具有强效的抗凝血活性, 是潜在的抗凝新药先导化合物[68], 其中, 海洋棘皮动物来源的硫酸化多糖在抗凝血方面的优势备受关注。

迄今为止, 棘皮动物中抗凝血多糖的研究以海参FG最为深入, 且取得了突破性进展。自20世纪80年代我国学者报道其抗凝血活性并发现其机制不同于HP[69,70], 四十余年来, 国内外学者对其抗凝血机制和构效关系等进行了深入研究[71-73]。天然FG能够强效抑制内源性因子X酶 (intrinsic tenase complex, FXase), 成为选择性内源性凝血因子抑制剂的候选先导化合物。其解聚产物低分子量FG不仅保留了这一活性, 还降低了不良反应[11], 这极大地推动了FG的研发进程。目前, 基于FG衍生的低聚物LFG-53抗凝新药已进入临床研究阶段。此外, 从海参FG低聚物中分离得到的

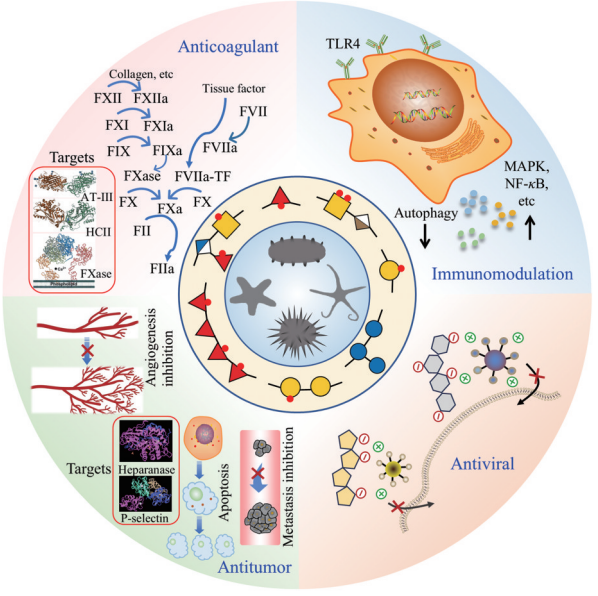


Figure 2 The main bioactivities of marine echinoderm polysaccharides. FXII, FXIIa, FXI, FXIa, FIX, FIXa, FVII, FVIIa, FX, FXa, FII, FIIa: Factor XII, XIIa, XI, XIa, IX, IXa, VII, VIIa, X, Xa, II, IIa; TF: Tissue factor; AT-III: Antithrombin III; HCII: Heparin cofactor II; TLR4: Toll-like receptor 4; MAPKs: Mitogen-activated protein kinases; NF-κB: Nuclear factor kappa-B

八糖、九糖等特定聚合度的寡糖, 也作为潜在的选择性FXase抑制剂被多个研究团队成功合成并实现大量制备[74,75]。最近的研究还发现, 新颖的八糖和十一糖能够延长凝血酶时间 (thrombin time, TT), 暗示其可能通

过抑制共同凝血途径发挥抗凝血功效, 这或许与其新型 Fuc 侧链有关, 值得进一步深入探讨[25]。除了 FG, 海参来源的其他多糖及其低聚物也表现出显著的抗凝血活性。例如, 海参 FS 及类 KS 多糖及其解聚产物, 不仅具有显著的活化部分凝血活酶时间 (activated partial thromboplastin time, APTT) 延长活性, 还能抑制内源性 FXase, 且抑制活性可达纳摩尔级, 其活性效价与链长呈正相关[8,32,43]。

海胆 FS 和 SG 也表现出良好的抗凝血活性。Vasconcelos 等[76]综合评价了海胆 FS (C-2 位硫酸化: [-α1,3-Fuc_{2S}-]$_n$ 及 C-4 位硫酸化: [-α1,3-Fuc_{4S}-]$_n$)、SG ([-α1,3-Gal_{2S}-]$_n$) 及其低分子量解聚产物的抗凝血活性。结果显示: C-2 位硫酸化的 SG 抗凝血活性最好, 而 C-2 位硫酸化的 FS 活性较差; 天然多糖的抗凝活性优于其解聚后的低聚物。此外, 所有硫酸化多糖均表现出低出血倾向, 且不会激活 FX Ⅱ 引发过敏反应[76-78]。这些结果表明, 海胆多糖的单糖组成、硫酸酯基取代位置和链长均会影响其抗凝血活性, 但其口服给药是否发挥强效抗凝血活性仍需进一步研究。

海星多糖 (如类 HP 及类 DS) 与 HP 分子量相近。类 HP 在延长 APTT、抑制凝血酶 (F Ⅱ a) 和因子 Xa (FXa) 方面与 HP 相当, 强于类 DS。这表明活性差异主要取决于其结构特征, 而非单纯依赖于分子量。进一步研究表明, 类 DS 多糖进行脱硫和还原处理, 脱硫样品失去抗凝血活性, 而还原样品虽活性降低但仍保持较强活性[58], 这表明硫酸酯基是类 DS 发挥抗凝血活性的关键基团。

海蛇尾来源的中性葡聚糖本身无抗凝血活性, 但硫酸化后表现出显著的抗凝血活性, 并能有效抑制 FXase [66]。随着海洋棘皮动物多糖构效关系研究的不断深入, 有望研制更多新型抗凝药物。

3.2 抗肿瘤活性

多糖可通过抗血管生成、细胞凋亡、抑制细胞增殖和免疫调节等方式发挥抗肿瘤作用。海洋棘皮动物中也发现了具有抗肿瘤活性的多糖。乙酰肝素酶可降解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 和细胞基底膜 (basal membrane, BM) 中的硫酸乙酰肝素糖链, 从而促进肿瘤细胞的分裂、趋化和血管生成。因此, 寻找乙酰肝素酶抑制剂成为肿瘤治疗药物研发的重要方向[79,80]。

研究表明, 海参 FG 及其低聚物均可强效抑制乙酰肝素酶, IC_{50} 值达纳摩尔级。例如, 象牙参来源的原型 FG 对乙酰肝素酶的抑制活性 IC_{50} 值约为 0.8 nmol·L^{-1}, 动力学常数 K_D 值约为 0.74 μmol·L^{-1}。这一抑制活性与链长密切相关。由于原型 FG 存在的出血风险, 其低聚物可能更适合用于研发乙酰肝素酶抑制剂。FG 低聚物可抑制 4T1 乳腺癌细胞和人脐静脉内皮细胞的迁移和侵袭, 抑制基质胶降解及血管生成, 且活性随分子量降低而减弱[30,81]。此外, 海参 FG 还可以通过降低缺氧诱导因子 Hif-1α、血管内皮生长因子 VEGF 和基质金属蛋白酶 MMP-2/9 的表达, 上调金属蛋白酶抑制剂 TIMP-1/2 的水平, 实现抗癌细胞转移[82]。

黏附分子在肿瘤转移中起重要作用, 其中 P-选择素是关键分子之一。近期研究发现, 墨西哥海参 FG 及其低聚物可与 P-选择素结合, 抑制活性随分子量增大而增强, 原型 FG 的活性最强, IC_{50} 达 6～37 nmol·L^{-1}。具有二硫酸取代的 Fuc 单糖侧链 (Fuc_{2S4S} 和 Fuc_{3S4S}) 的低聚物抑制活性最高, 而高硫酸化二糖侧链和单硫酸取代的 Fuc 单糖侧链 (Fuc_{4S}) 的低聚物活性较低。这表明侧链类型及硫酸化取代方式是影响活性的关键因素[24]。

此外, 海胆 SG 和 FS 也表现出 P-选择素依赖的抗肿瘤转移活性。例如, 来自 *E. lucunter* 的 SG (结构单元为[-α1,3-Gal_{2S}-]$_n$, 分子量 100 kDa), 以及分别来自绿海胆和巨紫球海胆的两种 FS (结构单元分别为[-α1,4-Fuc_{2S}-]$_n$ 和[-α1,3-Fuc_{2S}-]$_n$, 分子量分别为 80 kDa 和 100 kDa) 均被研究。结果显示: SG 及来自绿海胆来源的 FS 能够有效抑制肿瘤细胞与 P-选择素的结合, 从而抑制肿瘤细胞转移, 并阻断 P-选择素依赖的炎性细胞募集, 其中 SG 的活性尤为显著, 而巨紫球海胆来源的 FS 则几乎无活性[83]。这些硫酸化多糖分子量相近, 活性差异可能主要源自单糖组成及糖苷键类型的差异。虽然 SG 抗肿瘤活性最强, 但同时具有较强的抗凝血活性, 可能导致不良反应, 需要进一步评估药物安全性。

海胆葡聚糖对肿瘤细胞无直接细胞毒性, 但可通过激活免疫细胞和刺激细胞因子分泌抑制肿瘤生长[52]。其他海胆中也存在类似主链结构的葡聚糖, 可能含有特殊单糖侧链 (如 α-*D*-GlcA), 可将细胞周期阻滞在 G2/M 期和亚 G1 期, 通过增加 Bax/Bcl-2 比率诱导 HeLa 细胞凋亡, 并在体内显著抑制肿瘤生长[54]。

海蛇尾多糖也表现出抗肿瘤活性。例如, *Ophiocoma erinaceus* 粗多糖可将 HeLa 细胞阻滞于亚 G1 期, 增加 Bax/Bcl-2 比率, 上调酶 caspase-3 和 caspase-9 表达, 同时具有抗血管生成和抗肿瘤转移活性[84,85]。另一种海蛇尾 *Ophiocoma scolopendrina* 多糖单独或与紫杉醇联用时, 可通过 caspase 依赖途径诱导卵巢癌细胞凋亡[86]。

海星多糖 (如来自 *Asterina pectinifera* 的多糖) 表现出显著的抗肿瘤活性。它不仅能抑制 HT-29 增殖和转移, 还能增强细胞的 II 期解毒酶活性, 并抑制鸟氨酸

脱羧酶和环氧合酶 (cyclooxygenase, COX)-2 的活性。此外, 该多糖还可缓解佛波醇 12-十四烷酰-13-乙酸酯诱导的 HT-29 人结肠癌细胞的增殖和转移[87,88]。不仅如此, 海星多糖的抗肿瘤作用还体现在对其他癌细胞的抑制上, 它能够通过降低 COX-2 和芳香化酶的表达, 抑制人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的增殖和转移[89], 并且对雌激素受体阳性的乳腺癌细胞 MCF-7 具有显著的抗转移效果[90]。这些研究表明, 海星多糖在多种肿瘤模型中均展现出良好的抗肿瘤潜力。

3.3 免疫调节活性

与其他生物来源的多糖类似, 棘皮动物多糖也表现出免疫调节作用, 即免疫增强和抗炎活性。

3.3.1 免疫增强活性 多种棘皮动物来源的硫酸化多糖具有显著的免疫增强活性。例如, 白尖海参、*H. tubulosa*、黄乳海参 (*Holothuria fuscogilva*) 等来源的 FG, 以及绿刺参 (*Stichopus chloronotus*)、白肛海地瓜、仿刺参等来源的 FS, 均能诱导巨噬细胞产生一氧化氮 (nitric oxide, NO) 和细胞因子, 如白细胞介素 (interleukin, IL)-6、IL-1β、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)-α、COX-2 等, 增强巨噬细胞的吞噬功能, 其激活巨噬细胞的主要受体为 TLR4 等[27,91-94]。动物实验还发现, FG 能够增强环磷酰胺 (cyclophosphamide, CTX) 诱导的免疫抑制小鼠的免疫功能, 促进其造血功能的恢复[27]。构效关系研究表明, 黄乳海参 FG 经脱酰脱氨基解聚后得到的三糖至十八糖组分, 对巨噬细胞增殖率、NO 产生及中性红吞噬率的影响与原型 FG 相当甚至更强。此外, 不同程度脱乙酰基和 Fuc 侧链的 FG 活性与原型 FG 相近[94]。先前报道的 FG 大多同时含有多种硫酸化方式的 Fuc 侧链 (如 Fuc_{2S4S}、Fuc_{3S4S}、Fuc_{4S}), 因此, 单一硫酸化方式对活性的影响仍需通过比较不同物种来源的 FG 进一步明确。类似地, 具有免疫增强活性的 FS 目前仅探讨了单一物种的某一重复结构单元 (如[-α1,3-*L*-Fuc_{2S}-]) 的活性, 不同物种来源的 FS 中硫酸化方式对活性的影响尚待研究。

此外, 海参内脏来源的硫酸化多糖 SCVP-1 也能激活巨噬细胞, 其作用机制涉及 TLR4 受体及下游的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 和核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB) 信号通路[95]。海参来源的葡聚糖则通过调节免疫抑制小鼠的肠道菌群, 提高血清细胞因子水平, 增加紧密连接蛋白 (如 claudin-1、occludin、ZO-1 和 MUC2 等) 的表达, 从而增强巨噬细胞的增殖和吞噬能力[44]。海胆来源的 α-葡聚糖能够促进小鼠 T 细胞和 B 细胞的增殖, 激活 NF-κB 和 MAPK 通路, 增加细胞因子分泌, 其免疫调节活性可能与多糖的分支度密切相关[96,97]。另一研究也发现, 海胆中类似结构的葡聚糖的免疫调节活性与分支度呈正相关, 其他单糖类型可能也对活性有影响[55]。海星多糖对正常小鼠的免疫功能具有促进作用, 且内脏来源的多糖活性强于体壁来源[98]。海星硫酸甘露葡聚糖在体外可促进 RAW 264.7 细胞和小鼠原代腹腔巨噬细胞释放 NO 和细胞因子, 增强炎症相关介质的表达; 在免疫抑制小鼠体内则可改善胸腺及脾脏指数, 恢复炎症细胞计数[99]。

3.3.2 抗炎活性 炎症与多种疾病的发生发展密切相关, 如血栓形成、肿瘤转移、病毒感染。许多棘皮动物来源的硫酸化多糖在抑制血栓、抗肿瘤转移和抗病毒的同时, 还表现出显著的抗炎活性, 有助于阻止病情恶化。

海参来源的硫酸化多糖 (如 FG 和 FS) 是抗炎活性研究的典型代表。在小鼠腹膜炎症模型中, 海参 FG 能够显著抑制中性粒细胞向腹腔募集, 其机制可能与其类似唾液酸化路易斯-X 抗原的结构特征有关, FG 可与 P 和 L 选择素结合, 抑制选择素与抗原的结合, 其中硫酸化 Fuc 侧链在抗炎过程中起到关键作用[100,101]。此外, 海参 FG 低聚物还可通过抑制血小板 TLR2/TLR1 发挥显著的抗炎和抗血栓活性[102]。在角叉菜胶诱导的炎症模型中, 仿刺参、绿刺参、东海海参 (*Acaudina molpadioidea*) 等来源的 FG 均具有良好的抗炎效果[103], 但其作用机制和构效关系仍需进一步研究。

在脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 诱导的巨噬细胞炎症模型中, 以 α-1,3-Fuc 为结构单元, C-2 或 C-4 硫酸酯基取代的仿刺参来源 FS 能够抑制 NO 产生及炎症因子 (如 IL-1β、IL-6、TNF-α) 的分泌[104]。然而, 具有相似结构特征的白肛海地瓜 FS 却表现出相反的效果, 如刺激巨噬细胞产生 NO 及炎症因子 (如 IL-1β、IL-6、TNF-α、IL-12)[93]。这种差异的具体原因值得深入探讨。最近的研究还发现, 仿刺参 FS 可通过自噬途径抑制炎症, 且绿色仿刺参来源的 FS 效果优于紫色仿刺参[105]。海参的颜色受遗传、环境和生理因素影响, 与其体内营养物质密切相关[106]。研究表明, 青色和白色仿刺参中 GAG 的含量、硫酸化程度及硫酸化模式存在显著差异[107]。绿色和紫色仿刺参中 FS 的表达谱及其对抗炎活性的影响, 仍有待进一步研究。此外, 其他海洋棘皮动物来源的结构新颖多糖 (如 GAG、FS 等) 的抗炎活性鲜有报道, 值得进一步研究。

3.4 抗病毒活性

硫酸多糖是研究最多的抗病毒多糖之一, 包括天然提取和化学修饰的硫酸化多糖。其抗病毒机制通常被认为与其负电荷有关, 能够与病毒表面的正电荷结合, 从而抑制病毒进入宿主细胞。海洋棘皮动物中的

硫酸多糖表现出显著的抗病毒活性。

例如, 海参来源的FG和FS以及海胆来源的FS, 尽管结构各异, 但均能有效抑制人巨细胞病毒及腺病毒, 且具有良好的安全性。这些多糖的作用时间窗口较窄, 仅在病毒感染前或感染后1 h内加入才有效, 表明其通过阻止病毒附着或进入细胞发挥作用, 而病毒完全进入细胞后加入则无效。此外, 这些多糖能够抑制病毒早期蛋白-1/2的表达, 并消除病毒pp65蛋白在细胞上的沉积, 进一步证实其通过抑制病毒附着实现抗病毒效果。因此, 预孵育处理细胞时, 这些多糖无法发挥抗病毒作用[108]。

在抗冠状病毒活性的研究中, 海洋棘皮动物来源的FG和FS表现出良好的抑制效果, 能够有效抑制SARS-CoV-1及SARS-CoV-2病毒。推测硫酸多糖的抗病毒活性不仅与硫酸酯基含量和负电荷密度有关, 还与其结构、单糖类型等因素相关, 多糖的抗病毒活性最终取决于各种结构特征的综合影响。值得注意的是, 某些海胆和海参物种来源的FS抗凝血活性较低, 不良反应较小, 更适合作为新的广谱抗病毒药物进行开发[109,110]。

此外, 海参FG还表现出抗HIV-1活性, 能够选择性抑制C8166细胞中的嗜X4型和嗜R5X4型HIV-1感染, 且对C8166细胞和外周血单核细胞的毒性较低。其硫酸化Fuc侧链对活性起关键作用, 同时分子量和羧基对活性有重要影响。其中, 低分子量的羧基酯化FG片段 (8.5 kDa~12.8 kDa) 可能是更理想的候选药物, 它们通过靶向CD4i保持抗HIV-1的有效性, 同时抗凝血活性较弱[111]。

综上所述, 海洋棘皮动物来源的硫酸多糖在抗病毒领域展现出巨大潜力, 其活性与硫酸化程度、分子量和结构特征密切相关。未来的研究应进一步探索其构效关系, 以开发更安全、有效的抗病毒药物。

3.5 其他活性

海洋棘皮动物多糖还展现出其他生物活性, 包括促进造血、降血糖、抗氧化、保护肝脏和促进骨生长等。这些特性为开发新型海洋糖类药物提供了广阔前景。

例如, 海参FG能够改善CTX诱导的心脏毒性, 并促进CTX诱导的骨髓抑制小鼠的造血功能。其活性可能与Fuc侧链的硫酸酯基取代位置密切相关[27]。此外, 海参FS可通过成纤维细胞生长因子-2增强神经干细胞的活性并促进其增殖[112]。海参FG、FS及其混合物均能调节肠道菌群、改善代谢产物等, 展现出作为益生元在预防或治疗疾病方面的潜力[113-115]。海参来源的FG还表现出降血糖活性, 能够抑制胰岛素抵抗, 减少肝细胞中葡萄糖的生成[116]。

海星多糖也展现出多种活性。海星葡聚糖和硫酸化甘露葡聚糖均具有抗氧化和神经保护活性, 其中, 硫酸化甘露葡聚糖在清除自由基和还原能力方面优于普通葡聚糖, 这可能与硫酸酯基的存在有关[62]。此外, 海胆来源的α-葡聚糖能够减少脂质积累降低肝损伤[117]。从海胆中得到具有成骨活性的甘露聚糖, 能协同骨形态发成蛋白-2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2), 增强BMP-2诱导C2C12细胞的成骨分化[57]。

尽管海洋棘皮动物多糖, 尤其是硫酸化多糖, 已展现出广泛的药理功效, 但其构效关系仍需深入研究。例如分子量、糖苷键类型、硫酸化位点和侧链结构等因素对活性的具体影响尚不明确。进一步研究将有助于揭示这些多糖的活性机制, 为开发活性更强、不良反应更小的海洋糖类新药奠定基础。

4 结语与展望

海洋棘皮动物多糖种类丰富多样, 目前已在海参、海胆、海星和海蛇尾中发现数种新颖的多糖, 包括FG、FS、KS、SG、类DS、类HP、CS/DS类多糖、葡聚糖、葡甘露聚糖等。这些多糖表现出强效的生物活性, 如抗凝血、抗肿瘤、免疫调节、抗病毒、刺激造血、降血糖等, 展现出巨大的新药研发潜力。然而, 从基础研究到药物应用的过程中, 仍面临诸多挑战。

首先, 不同物种的棘皮动物多糖提取率差异显著, 例如, 海参中粗糖得率在0.6%～20%之间[118], 对于多糖得率较低的物种, 可通过优化提取方法提高得率。然而, 部分物种资源有限, 且许多物种尚未实现商业化养殖, 导致采集成本较高, 限制了活性显著多糖的实际应用。合成生物学以及成簇规律间隔短回文重复序列基因编辑技术为解决这一难题提供了新思路。通过揭示海洋棘皮动物多糖生物合成的关键酶基因家族和生物合成途径, 有望通过异源表达实现目标多糖的规模化合成, 从而显著提高产量[119,120]。

其次, 棘皮动物多糖的分离和纯化面临技术瓶颈。在分离分子量和电荷相近的酸性多糖时, 传统的离子交换和分子排阻色谱法效果不佳。虽然通过选择性解聚可分离目标多糖, 但这种方法具有破坏性, 难以实现同时分离。此外, 同一物种的不同器官可能包含不同种类和结构的多糖。例如, 海参多糖大多提取自体壁, 而其内脏可能含有其他新颖的杂多糖。提取时需注意体壁和内脏的分离, 并去除内脏中的藻类等食物残渣, 以避免对结构解析和活性研究的干扰。

再者, 棘皮动物多糖结构复杂, 解析难度大, 这给基础研究和实际应用带来了挑战。降解为低聚物有助于结构解析, 同时提高生物利用度及降低不良反应, 有利于研发药效和药代动力学特征更清晰的新药。例如

酶解法、脱氨基解聚和β-消除法等高选择性解聚方法在制备低聚物和分离寡糖方面具有优势, 但这些方法在棘皮动物多糖研究中的应用仍较少。抗凝新药LFG-53即为通过β-消除解聚得到的低聚物, 其结构通过柱色谱法分离低聚物中的所有糖片段, 并采用1D/2D NMR及HRMS等技术得以解析。柱层析法分离糖片段的效率较低, 仍需探索更高效的分离技术。海洋生物来源的CS/DS类多糖通常通过酶解法进行不饱和二糖分析, 但海洋棘皮动物多糖中存在非常规硫酸酯基取代的结构, 这些结构难以被现有酶解法降解, 限制了其结构分析的准确性。因此, 发现更多特异性多糖降解酶是当前研究的迫切需求。

尽管HRMS无法直接解析棘皮动物来源多糖的结构, 但在解聚后分离得到的寡糖的结构解析与确证中发挥了重要的作用。对于中性多糖 (如葡聚糖) 来源的寡糖, HRMS在正、负离子模式下均展现出了高通量和高灵敏度的优势[121]; 而对于硫酸化多糖来源的寡糖, 由于其含有大量的硫酸酯基, 负离子模式往往更为适用。例如, 海参FG和FS的化学解聚或酶解产物中分离得到的寡糖 (聚合度为3~9), 其分子量可通过HRMS准确测定, 从而进一步验证了核磁共振解析结构的正确性[11,22,122]。然而, 由于糖苷键的选择性解聚方法难以建立、解聚产物的复杂性、硫酸酯基易脱落、多种糖苷键的存在以及糖醛酸的差向异构化等诸多因素, 使得HRMS在棘皮动物来源硫酸化多糖的序列分析中面临巨大挑战。即便如此, 随着各种解聚和分离方法的不断完善以及经验的不断积累, HRMS在海洋棘皮动物来源多糖的结构解析中必将发挥越来越关键的作用。

此外, 海洋棘皮动物多糖的生物活性复杂。虽然大多数硫酸多糖具有良好的抗凝血活性, 但在发挥其他活性时, 其强效抗凝活性可能带来出血风险等不良反应。为避免这一问题, 一方面可在不同物种中筛选抗凝活性较低但其他活性显著的天然多糖; 另一方面可通过修饰多糖结构降低其抗凝活性。

目前, 海参和海胆多糖的研究已取得显著进展, 而海星和海蛇尾多糖的研究相对较少, 尚未见海百合多糖的相关研究报道。已有研究表明, 某些新颖的海星和海蛇尾多糖具有强效的药理活性, 具有重要的新药研发价值。然而, 海洋棘皮动物约有7 000多个物种, 目前只有少数物种的多糖得到了深入研究, 大部分物种的多糖结构和活性仍有待阐明, 成药性评价也亟待加强。

随着研究的不断拓展和新技术的建立与完善, 海洋棘皮动物多糖的研究有望取得更多突破性进展, 为开发新型海洋糖类药物提供重要支持。

作者贡献: 刘梓栋负责文章撰写、文献检索、插图绘制; 符洁雯、时响、张雪冬负责文献检索及文章修改; 刘永宏参与文章审校及指导; 袁清霞、赵龙岩负责文章选题、整体构思及全程指导。

利益冲突: 所有作者声明本文不存在任何利益冲突。

References

[1] Pan L, Cai C, Liu C, et al. Recent progress and advanced technology in carbohydrate-based drug development [J]. Curr Opin Biotechnol, 2021, 69: 191-198.

[2] Amemiya CT, Miyake T, Rast JP. Echinoderms [J]. Curr Biol, 2005, 15: R944-R946.

[3] Carroll AR, Copp BR, Davis RA, et al. Marine natural products [J]. Nat Prod Rep, 2023, 40: 275-325.

[4] Wang Y, Guo X, Huang C, et al. Biomedical potency and mechanisms of marine polysaccharides and oligosaccharides: a review [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 265: 131007.

[5] Hossain A, Dave D, Shahidi F. Sulfated polysaccharides in sea cucumbers and their biological properties: a review [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 253: 127329.

[6] Li H, Yuan QX, Lv KL, et al. Low-molecular-weight fucosylated glycosaminoglycan and its oligosaccharides from sea cucumber as novel anticoagulants: a review [J]. Carbohydr Polym, 2021, 251: 117034.

[7] Yuan QX, Shi X, Ma HQ, et al. Recent progress in marine chondroitin sulfate, dermatan sulfate, and chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains as potential functional foods and therapeutic agents [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 262: 129969.

[8] Chen R, Wang WL, Yin RH, et al. Structural characterization and anticoagulant activities of a keratan sulfate-like polysaccharide from the sea cucumber *Holothuria fuscopunctata* [J]. Mar Drugs, 2023, 21: 632.

[9] Ma Y, Zuo Z, Zheng W, et al. Structural characterization of a distinct fucan sulfate from *Pattalus mollis* through an oligosaccharide mapping approach [J]. Carbohydr Res, 2024, 536: 109052.

[10] Chen G, Yu L, Shi F, et al. A comprehensive review of sulfated fucan from sea cucumber: antecedent and prospect [J]. Carbohydr Polym, 2024, 341: 122345.

[11] Zhao LY, Wu MY, Xiao C, et al. Discovery of an intrinsic tenase complex inhibitor: pure nonasaccharide from fucosylated glycosaminoglycan [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112: 8284-8289.

[12] Vieira RP, Mourão PA. Occurrence of a unique fucose-branched chondroitin sulfate in the body wall of a sea cucumber [J]. J Biol Chem, 1988, 263: 18176-18183.

[13] Kariya Y, Watabe S, Kyogashima M, et al. Structure of fucose branches in the glycosaminoglycan from the body wall of the sea cucumber *Stichopus japonicus* [J]. Carbohydr Res, 1997, 297: 273-279.

[14] Guan R, Peng Y, Zhou L, et al. Precise structure and anticoagulant activity of fucosylated glycosaminoglycan from *Apostichopus japonicus*: analysis of its depolymerized fragments [J]. Mar Drugs, 2019, 17: 195.

[15] Yin RH, Pan Y, Cai Y, et al. Re-understanding of structure and anticoagulation: fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber *Ludwigothurea grisea* [J]. Carbohydr Polym, 2022, 294: 119826.

[16] Yin R, Zhou L, Gao N, et al. Oligosaccharides from depolymerized fucosylated glycosaminoglycan: structures and minimum size for intrinsic factor Xase complex inhibition [J]. J Biol Chem, 2018, 293: 14089-14099.

[17] Yang W, Cai Y, Yin R, et al. Structural analysis and anticoagulant activities of two sulfated polysaccharides from the sea cucumber *Holothuria coluber* [J]. Int J Biol Macromol, 2018, 115: 1055-1062.

[18] Cai Y, Yang W, Li X, et al. Precise structures and anti-intrinsic tenase complex activity of three fucosylated glycosaminoglycans and their fragments [J]. Carbohydr Polym, 2019, 224: 115146.

[19] Mao H, Cai Y, Li SN, et al. A new fucosylated glycosaminoglycan containing disaccharide branches from *Acaudina molpadioides*: unusual structure and anti-intrinsic tenase activity [J]. Carbohydr Polym, 2020, 245: 116503.

[20] Lan D, Zhang JL, Shang XL, et al. Branch distribution pattern and anticoagulant activity of a fucosylated chondroitin sulfate from *Phyllophorella kohkutiensis* [J]. Carbohydr Polym, 2023, 321: 121304.

[21] Li S, Zhong W, Pan Y, et al. Structural characterization and anticoagulant analysis of the novel branched fucosylated glycosaminoglycan from sea cucumber *Holothuria nobilis* [J]. Carbohydr Polym, 2021, 269: 118290.

[22] Yin RH, Zhou LT, Gao N, et al. Unveiling the disaccharide-branched glycosaminoglycan and anticoagulant potential of its derivatives [J]. Biomacromolecules, 2021, 22: 1244-1255.

[23] Yuan QX, Li H, Wang Q, et al. Deaminative-cleaved *S. monotuberculatus* fucosylated glycosaminoglycan: structural elucidation and anticoagulant activity [J]. Carbohydr Polym, 2022, 298: 120072.

[24] Pan Y, Sun HF, Gu X, et al. Oligosaccharide-assisted resolution of holothurian fucosylated chondroitin sulfate for fine structure and P-selectin inhibition [J]. Carbohydr Polym, 2025, 351: 123145.

[25] Zhang X, Yan G, Liu X, et al. Structural characterization and anticoagulant potential of *Colochirus quadrangularis* fucosylated glycosaminoglycan 5 − 12 oligomers with unusual branches [J]. Mar Drugs, 2025, 23: 64.

[26] Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Dmitrenok AS, et al. Two fucosylated chondroitin sulfates from the sea cucumber *Eupentacta fraudatrix* [J]. Carbohydr Polym, 2017, 164: 8-12.

[27] Niu Q, Li G, Li C, et al. Two different fucosylated chondroitin sulfates: Structural elucidation, stimulating hematopoiesis and immune-enhancing effects [J]. Carbohydr Polym, 2020, 230: 115698.

[28] Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Dmitrenok AS, et al. Fucosylated chondroitin sulfate from the sea cucumber *Hemioedema spectabilis*: structure and influence on cell adhesion and tubulogenesis [J]. Carbohydr Polym, 2020, 234: 115895.

[29] Qiu PP, Wu FX, Yi L, et al. Structure characterization of a heavily fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber (*H. leucospilota*) with bottom-up strategies [J]. Carbohydr Polym, 2020, 240: 116337.

[30] Shi X, Guan RW, Zhou LT, et al. Structural characterization and heparanase inhibitory activity of fucosylated glycosaminoglycan from *Holothuria floridana* [J]. Mar Drugs, 2021, 19: 162.

[31] Xu C, Shi X, Sun H, et al. Unique structure and biological properties of fucosylated glycosaminoglycan and its oligosaccharides from sea cucumber *Holothuria floridana* [J]. Carbohydr Polym, 2025, 355: 123351.

[32] Gao N, Chen R, Mou R, et al. Purification, structural characterization and anticoagulant activities of four sulfated polysaccharides from sea cucumber *Holothuria fuscopunctata* [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 164: 3421-3428.

[33] Ruzemaimaiti D, Sun H, Zhang J, et al. Oligomer-guided recognition of two fucan sulfate from *Bohadschia argus* and inhibition of P-selectin binding to its ligand [J]. Carbohydr Polym, 2023, 317: 121080.

[34] Li C, Niu Q, Li S, et al. Fucoidan from sea cucumber *Holothuria polii*: structural elucidation and stimulation of hematopoietic activity [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 154: 1123-1131.

[35] Khamleng A, Chen G, Shen J, et al. Structural analysis of sulfated fucan from the sea cucumber *Holothuria mexicana* with the assistance of endo-1,3-fucanase [J]. Carbohydr Polym, 2025, 352: 123231.

[36] Chen G, Yu L, Zhang Y, et al. Utilizing heterologously overexpressed endo-1,3-fucanase to investigate the structure of sulfated fucan from sea cucumber (*Holothuria hilla*) [J]. Carbohydr Polym, 2021, 272: 118480.

[37] He W, Sun H, Su L, 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.

[38] Li X, Sun H, Ning Z, et al. Mild acid hydrolysis on fucan sulfate from *Stichopus herrmanni*: structures, depolymerization mechanism and anticoagulant activity [J]. Food Chem, 2022, 395: 133559.

[39] Yu L, Xue C, Chang Y, et al. Structure and rheological characteristics of fucoidan from sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. Food Chem, 2015, 180: 71-76.

[40] Cai Y, Yang W, Yin R, et al. An anticoagulant fucan sulfate with hexasaccharide repeating units from the sea cucumber *Holothuria albiventer* [J]. Carbohydr Res, 2018, 464: 12-18.

[41] Dwivedi R, Farrag M, Sharma P, et al. The sea cucumber

Thyonella gemmata contains a low anticoagulant sulfated fucan with high anti-SARS-CoV-2 actions against wild-type and delta variants [J]. J Nat Prod, 2023, 86: 1463-1475.

[42] Li X, Li S, Liu J, et al. A regular fucan sulfate from *Stichopus herrmanni* and its peroxide depolymerization: structure and anticoagulant activity [J]. Carbohydr Polym, 2021, 256: 117513.

[43] 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: 198.

[44] Zhang ZC, Mwizerwa Muhindo E, Wang SJ, et al. Structural characteristics and immunostimulatory activity of sea cucumber tendon polysaccharides in cyclophosphamide-induced Balb/c mice [J]. Food Funct, 2022, 13: 8627-8642.

[45] Vilela-Silva AC, Castro MO, Valente AP, et al. Sulfated fucans from the egg jellies of the closely related sea urchins *Strongylocentrotus droebachiensis* and *Strongylocentrotus pallidus* ensure species-specific fertilization [J]. J Biol Chem, 2002, 277: 379-387.

[46] Alves AP, Mulloy B, Diniz JA, 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.

[47] Cinelli LP, Castro MO, Santos LL, et al. Expression of two different sulfated fucans by females of *Lytechinus variegatus* may regulate the seasonal variation in the fertilization of the sea urchin [J]. Glycobiology, 2007, 17: 877-885.

[48] Vilela-Silva AC, Alves AP, Valente AP, et al. Structure of the sulfated alpha-*L*-fucan from the egg jelly coat of the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*: Patterns of preferential 2-*O*- and 4-*O*-sulfation determine sperm cell recognition [J]. Glycobiology, 1999, 9: 927-933.

[49] Castro MO, Pomin VH, Santos LL, et al. A unique 2-sulfated beta-galactan from the egg jelly of the sea urchin *Glyptocidaris crenularis*: conformation flexibility *versus* induction of the sperm acrosome reaction [J]. J Biol Chem, 2009, 284: 18790-18800.

[50] Cinelli LP, Andrade L, Valente AP, et al. Sulfated alpha-*L*-galactans from the sea urchin ovary: selective 6-desulfation as eggs are spawned [J]. Glycobiology, 2010, 20: 702-709.

[51] Vilela-Silva AC, Werneck CC, Valente AP, et al. Embryos of the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus* synthesize a dermatan sulfate enriched in 4-*O*- and 6-*O*-disulfated galactosamine units [J]. Glycobiology, 2001, 11: 433-440.

[52] Liu CH, Lin QX, Gao Y, et al. Characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs [J]. Carbohydr Polym, 2007, 67: 313-318.

[53] Ma Y, Xing Y, Mi H, et al. Extraction, preliminary characterization and immunostimulatory activity *in vitro* of a polysaccharide isolated from *Strongylocentrotus nudus* eggs [J]. Carbohydr Polym, 2014, 111: 576-583.

[54] Jiang Y, Shang ZP, Lv XY, et al. Structure elucidation and antitumor activity of a water soluble polysaccharide from *Hemicentrotus pulcherrimus* [J]. Carbohydr Polym, 2022, 292: 119718.

[55] Shang ZP, Jiang Y, Yang FH, et al. A homologous series of alpha-glucans from *Hemicentrotus pulcherrimus* and their immunomodulatory activity [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 260: 129657.

[56] Sims IM, Carnachan SM, Bell TJ, et al. Methylation analysis of polysaccharides: technical advice [J]. Carbohydr Polym, 2018, 188: 1-7.

[57] Yang JF, Yi M, Pan JF, et al. Sea urchin (*Strongylocentrotus intermedius*) polysaccharide enhanced BMP-2 induced osteogenic differentiation and its structural analysis [J]. J Funct Foods, 2015, 14: 519-528.

[58] Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Dmitrenok AS, et al. Oversulfated dermatan sulfate and heparinoid in the starfish *Lysastrosoma anthosticta*: structures and anticoagulant activity [J]. Carbohydr Polym, 2021, 261: 117867.

[59] Bilan MI, Anisimova NY, Tokatly AI, et al. Glycosaminoglycans from the starfish *Lethasterias fusca*: structures and influence on hematopoiesis [J]. Mar Drugs, 2023, 21: 205.

[60] Li J, Jiang BR, Wang HM, et al. Isolation, purification, and identification of starfish polysaccharide [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2010, 31: 122-124.

[61] Cui WC, Song B, Dan XD, et al. Extraction, separation, and structural characterization of polysaccharide from *Asterias amurensis* viscera [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2016, 35: 24-30.

[62] Zhang W, Wang J, Jin W, et al. The antioxidant activities and neuroprotective effect of polysaccharides from the starfish *Asterias rollestoni* [J]. Carbohydr Polym, 2013, 95: 9-15.

[63] Fontaine A. Secretion of a highly sulphated acid mucopolysaccharide by the brittle-star, *Ophiocomina nigra* [J]. Nature, 1955, 176: 606-607.

[64] Ramachandra R, Namburi RB, Ortega-Martinez O, et al. Brittle-stars contain highly sulfated chondroitin sulfates/dermatan sulfates that promote fibroblast growth factor 2-induced cell signaling [J]. Glycobiology, 2014, 24: 195-207.

[65] Ramachandra R, Namburi RB, Dupont ST, et al. A potential role for chondroitin sulfate/dermatan sulfate in arm regeneration in *Amphiura filiformis* [J]. Glycobiology, 2017, 27: 438-449.

[66] Ma HQ, Yuan QX, Tang H, et al. Structural elucidation of a glucan from *Trichaster palmiferus* by its degraded products and preparation of its sulfated derivative as an anticoagulant [J]. Mar Drugs, 2023, 21: 148.

[67] Cross B, Turner RM, Zhang JE, et al. Being precise with anticoagulation to reduce adverse drug reactions: are we there yet? [J]. Pharmacogenomics J, 2024, 24: 7.

[68] Sheng KJ, Gao Y, Bao T, et al. Research progress on anticoagulant active molecules [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2023, 58: 1103-1116.

[69] Fan HZ, Chen JD, Lv PH, et al. Research on the acidic polysaccharides of sea cucumber *Holothuria leucospilota* [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 1983, 18: 203-208.

[70] Li JZ, Lian EC. Mechanism of rabbit platelet agglutination induced by acidic mucopolysaccharide extracted from *Stichopus japonicus* Selenka [J]. Thromb Haemost, 1988, 59: 432-434.

[71] Hideki N, Kei-ichi E, Kazuhisa M, et al. Depolymerized holothurian glycosaminoglycan with novel anticoagulant actions: antithrombin III- and heparin cofactor II-independent inhibition of factor X activation by factor IXa-factor Villa complex and heparin cofactor II-dependent inhibition of thrombin [J]. Blood, 1995, 85: 1527-1534.

[72] Liu Y, Li R, Song L, et al. Intermediate molecular weight-fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber *Cucumaria frondosa* is a promising anticoagulant targeting intrinsic factor IXa [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 269: 131952.

[73] Gao N, Wu MY, Liu S, et al. Preparation and characterization of *O*-acylated fucosylated chondroitin sulfate from sea cucumber [J]. Mar Drugs, 2012, 10: 1647-1661.

[74] Zhang X, Liu H, Lin L, et al. Synthesis of fucosylated chondroitin sulfate nonasaccharide as a novel anticoagulant targeting intrinsic factor Xase complex [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2018, 57: 12880-12885.

[75] Zhang L, Xu P, Liu B, et al. Chemical synthesis of fucosylated chondroitin sulfate oligosaccharides [J]. J Org Chem, 2020, 85: 15908-15919.

[76] Vasconcelos AA, Sucupira ID, Guedes AL, et al. Anticoagulant and antithrombotic properties of three structurally correlated sea urchin sulfated glycans and their low-molecular-weight derivatives [J]. Mar Drugs, 2018, 16: 304.

[77] Pereira MS, Vilela-Silva ACES, Valente AP, et al. A 2-sulfated, 3-linked *α*-*L*-galactan is an anticoagulant polysaccharide [J]. Carbohydr Res, 2002, 337: 2231-2238.

[78] Pereira MS, Melo FR, Mourão PA. Is there a correlation between structure and anticoagulant action of sulfated galactans and sulfated fucans? [J]. Glycobiology, 2002, 12: 573-580.

[79] Vlodavsky I, Goldshmidt O, Zcharia E, et al. Mammalian heparanase: involvement in cancer metastasis, angiogenesis and normal development [J]. Semin Cancer Biol, 2002, 12: 121-129.

[80] Jia L, Ma S. Recent advances in the discovery of heparanase inhibitors as anti-cancer agents [J]. Eur J Med Chem, 2016, 121: 209-220.

[81] Zhou LT, Yin RH, Gao N, et al. Oligosaccharides from fucosylated glycosaminoglycan prevent breast cancer metastasis in mice by inhibiting heparanase activity and angiogenesis [J]. Pharmacol Res, 2021, 166: 105527.

[82] He MD, Wang JF, Hu SW, et al. The effects of fucosylated chondroitin sulfate isolated from *Isostichopus badionotus* on antimetastatic activity *via* down-regulation of Hif-1*α* and Hpa [J]. Food Sci Biotechnol, 2014, 23: 1643-1651.

[83] Teixeira F, Kozlowski EO, Micheli KVA, et al. Sulfated fucans and a sulfated galactan from sea urchins as potent inhibitors of selectin-dependent hematogenous metastasis [J]. Glycobiology, 2018, 28: 427-434.

[84] Javad B, Elaheh A. The potential of brittle star extracted polysaccharide in promoting apoptosis *via* intrinsic signaling pathway [J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2015, 7: 151-158.

[85] Baharara J, Amini E, Musavi M. Anti-vasculogenic activity of a polysaccharide derived from brittle star *via* inhibition of VEGF, Paxillin and MMP-9 [J]. Iran J Biotechnol, 2017, 15: 179-185.

[86] Elaheh A, Javad B, Mahbube A, et al. The p53 modulated cytotoxicity of *Ophiocoma scolopendrina* polysaccharide against resistance ovarian cancer cells [J]. Avicenna J Med Biotechnol, 2019, 11: 208-214.

[87] Nam KS, Shon YH. Chemopreventive effects of polysaccharides extract from *Asterina pectinifera* on HT-29 human colon adenocarcinoma cells [J]. BMB Rep, 2009, 42: 277-280.

[88] Lee KS, Shin JS, Nam KS. Inhibitory effect of starfish polysaccharides on metastasis in HT-29 human colorectal adenocarcinoma [J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2012, 17: 764-769.

[89] Lee KS, Shin JS, Nam KS. Cancer chemopreventive effects of starfish polysaccharide in human breast cancer cells [J]. Biotechnol Bioprocess Eng, 2011, 16: 987-991.

[90] Lee KS, Shin JS, Nam KS. Starfish polysaccharides downregulate metastatic activity through the MAPK signaling pathway in MCF-7 human breast cancer cells [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40: 5959-5966.

[91] Li Q, Jiang S, Shi W, et al. Structure characterization, antioxidant and immunoregulatory properties of a novel fucoidan from the sea cucumber *Stichopus chloronotus* [J]. Carbohydr Polym, 2020, 231: 115767.

[92] Cao RA, Surayot U, You S. Structural characterization of immunostimulating protein-sulfated fucan complex extracted from the body wall of a sea cucumber, *Stichopus japonicus* [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 99: 539-548.

[93] Guo F, Su LJ, Shen C, et al. *In vitro* and *in vivo* immunoregulatory activity of sulfated fucan from the sea cucumber *A. leucoprocta* [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 187: 931-938.

[94] Gong PX, Wu YC, Chen X, et al. Immunological effect of fucosylated chondroitin sulfate and its oligomers from *Holothuria fuscogilva* on RAW 264.7 cells [J]. Carbohydr Polym, 2022, 287: 119362.

[95] Yang D, Lin F, Huang Y, et al. Separation, purification, structural analysis and immune-enhancing activity of sulfated polysaccharide isolated from sea cucumber viscera [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 155: 1003-1018.

[96] Wang QC, Wei M, Yue Y, et al. Structural characterization and immunostimulatory activity *in vitro* of a glycogen from sea urchin-*Strongylocentyotus internedius* [J]. Carbohydr Polym, 2021, 258: 117701.

[97] Liu C, Xi T, Lin Q, et al. Immunomodulatory activity of polysaccharides isolated from *Strongylocentrotus nudus* eggs [J]. Int Immunopharmacol, 2008, 8: 1835-1841.

[98] Xu FL, Li YQ, Li FF, et al. Extraction of mucopolysaccharides from *Asterias rollestoni* and its immunomodulatory effects *in vitro* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2009, 32: 1421-1424.

[99] Liu Y, Wu X, Wang Y, et al. The immunoenhancement effects of starfish *Asterias rollestoni* polysaccharides in macrophages and cyclophosphamide-induced immunosuppression mouse models [J]. Food Funct, 2020, 11: 10700-10708.

[100] Panagos CG, Thomson DS, Moss C, et al. Fucosylated chondroitin sulfates from the body wall of the sea cucumber *Holothuria forskali*: conformation, selectin binding, and biological activity [J]. J Biol Chem, 2014, 289: 28284-28298.

[101] Ustyuzhanina NE, Bilan MI, Panina EG, et al. Structure and anti-inflammatory activity of a new unusual fucosylated chondroitin sulfate from *Cucumaria djakonovi* [J]. Mar Drugs, 2018, 16: 389.

[102] Sun H, Zhu G, Li S, et al. Fucosylated glycosaminoglycan oligosaccharide HS14, derived from sea cucumbers, is a novel inhibitor of platelet toll-like receptor 2 [J]. Mar Drugs, 2025, 23: 110.

[103] Mou J, Li Q, Qi X, et al. Structural comparison, antioxidant and anti-inflammatory properties of fucosylated chondroitin sulfate of three edible sea cucumbers [J]. Carbohydr Polym, 2018, 185: 41-47.

[104] Ye J, Zheng L, Pan W, et al. Sulfated polysaccharide from *Apostichopus japonicus* viscera exhibits anti-inflammatory properties *in vitro* and *in vivo* [J]. Int J Biol Macromol, 2024, 280: 135500.

[105] Hou T, Liu X, Zhang S, et al. Anti-inflammatory effects of the fucoidan from sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. Mar Biotechnol (NY), 2025, 27: 32.

[106] Jo J, Oh J, Lee HG, et al. Draft genome of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* and genetic polymorphism among color variants [J]. GigaScience, 2017, 6: 1-6.

[107] Han Q, Zhou H, Wang WW, et al. Study on the differences in glycosaminoglycan expression profiles in two-color *Apostichopus japonicus* [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2023, 42: 1-9.

[108] Zoepfl M, Dwivedi R, Taylor MC, et al. Antiviral activities of four marine sulfated glycans against adenovirus and human cytomegalovirus [J]. Antiviral Res, 2021, 190: 105077.

[109] Zoepfl M, Dwivedi R, Kim SB, et al. Antiviral activity of marine sulfated glycans against pathogenic human coronaviruses [J]. Sci Rep, 2023, 13: 4804.

[110] He P, Song Y, Jin W, et al. Marine sulfated glycans inhibit the interaction of heparin with S-protein of SARS-CoV-2 Omicron XBB variant [J]. Glycoconj J, 2024, 41: 163-174.

[111] Lian W, Wu M, Huang N, et al. Anti-HIV-1 activity and structure-activity-relationship study of a fucosylated glycosaminoglycan from an echinoderm by targeting the conserved CD4 induced epitope [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830: 4681-4691.

[112] Zhang Y, Song S, Song D, et al. Proliferative effects on neural stem/progenitor cells of a sulfated polysaccharide purified from the sea cucumber *Stichopus japonicus* [J]. J Biosci Bioeng, 2010, 109: 67-72.

[113] Qin W, Wei B, Ren P, et al. Fucoidan from *Apostichopus japonicus* enhances intestinal barrier function and promotes intestinal immunity *via* regulating the gut microbiota and tryptophan metabolism [J]. Int J Biol Macromol, 2025, 301: 139929.

[114] Zheng QL, Chun QA, Xin PL, et al. Sea cucumber sulfated polysaccharides and *Lactobacillus gasseri* synergistically ameliorate the overweight induced by altered gut microbiota in mice [J]. Food Funct, 2023, 14: 4106-4116.

[115] Fu QZ, Ting TM, Xin Z, et al. *Holothuria leucospilota* polysaccharides improve immunity and the gut microbiota in cyclophosphamide-treated immunosuppressed mice [J]. Mol Nutr Food Res, 2022, 67: e2200317.

[116] Chen Y, Liu H, Wang Y, et al. Glycosaminoglycan from *Apostichopus japonicus* inhibits hepatic glucose production *via* activating Akt/FoxO1 and inhibiting PKA/CREB signaling pathways in insulin resistant hepatocytes [J]. Food Funct, 2019, 10: 7565-7575.

[117] Liu JY, Dang LJ, Yang JJ, et al. HPP-1S attenuates oleic acid-induced steatosis in HepG2 cells and nonalcoholic fatty liver disease in a rat model of high-fat diet-induced obesity [J]. J Funct Foods, 2024, 119: 106305.

[118] Ma XQ, Xia SD, Wang P, et al. Research progress in extraction, purification, chemical analysis, and biological activity of sea cucumber polysaccharides [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2024, 50: 364-373.

[119] Zhang EH, Qiu H. Gene-editing technology and its application in glycobiology research [J]. Chin J Biochem Mol Biol (中国生物化学与分子生物学报), 2024, 40: 433-452.

[120] Felix AL, Penno SM, Bezerra FF, et al. Fucosylated chondroitin sulfate, an intriguing polysaccharide from sea cucumber: past, present, and future [J]. Glycobiology, 2025, 35: cwae098.

[121] Liu YC, Li HF, Li K, et al. Study on the characteristic branch sites of oligosaccharides of *Astragalus* polysaccharide APS-II enzymolysis based on high resolution mass spectrometry [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 2108-2116.

[122] Lang Y, Zhao X, Liu L, et al. Applications of mass spectrometry to structural analysis of marine oligosaccharides [J]. Mar Drugs, 2014, 12: 4005-4030.