

乌贼墨及其活性多糖的研究进展

谷毅鹏^{1,2}, 尚江华², 陶叶杏¹, 刘华忠^{1,2*}

(1. 广东海洋大学理学院, 湛江 524088; 2. 中国农业科学院广西水牛研究所, 南宁 530001)

摘 要: 目前, 从海洋生物中寻找活性物质, 是研究开发天然药物的一个重要方向。乌贼是丰富易得的海洋生物, 而乌贼墨是乌贼加工中的废弃物, 它作为一种极具潜力的海洋活性物质, 具有止血、抗菌、增强免疫、抗肿瘤、抗氧化等多种生理活性。乌贼墨多糖就是从乌贼墨中分离出的一种主要活性成分, 在抗氧化、抗肿瘤、抗化疗、增强免疫等功能活性方面均表现出了良好的作用效果。通过对乌贼墨中生物活性成分的研究, 不仅为乌贼加工废弃物提供了高值化利用途径, 也为开发临床医药、保健食品提供了新的资源, 对扩大药源及对海洋资源的充分利用都具有深远意义, 已受到科研工作者的广泛关注。本文通过综合近年来国内外有关乌贼墨及其活性多糖的研究进展, 对它们的理化性质、生物活性和临床应用等方面进行了较为系统的综述, 并根据其研究特点和应用前景提出了未来研究的发展方向。

关键词: 多糖; 多肽; 活性; 乌贼墨

Research progress of squid ink and its polysaccharide

GU Yi-Peng^{1,2}, SHANG Jiang-Hua², TAO Ye-Xing¹, LIU Hua-Zhong^{1,2*}

(1. Faculty of Science, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Guangxi Buffalo Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530001, China)

ABSTRACT: At present, it is an important way to study the development of natural medicine via searching for active substances from marine life. Squid is an abundant marine animal and its ink is wastes from squid processing. However, Squid ink is a kind of marine active substance with great potential on its physiological activities, such as hemostasis, antibacterial, enhance immunity, antitumor and antioxidation. Squid ink polysaccharide is the most important active ingredient isolated from squid ink, which has good effects of antioxidant, antitumor, antichemotherapy and enhanced immunity, etc. The researches on bioactive constituents in squid ink provide not only high value utilization way for squid processing wastes, but also new resources for development of clinical medicine and health food, which demonstrate great significance to expand the source of medicine and make full use of marine resources, thus, attract the extensive attention from scientific researchers. In this review, we summarized the recent research progress about squid ink and its polysaccharide at home and abroad, in terms of their physical and chemical properties, biological activity and clinical application, and proposed the future research direction according to their research characteristic and application prospects.

KEY WORDS: polysaccharide; polypeptide; bioactivity; squid ink

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171667)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31171667)

*通讯作者: 刘华忠, 教授, 主要研究方向为海洋活性物质研究。E-mail: liuhzbs@163.com

*Corresponding author: LIU Hua-Zhong, Professor, Faculty of Science, Guangdong Ocean University, No.1, Haida Road, Mazhang District, Zhanjiang 524088, China. E-mail: liuhzbs@163.com

1 引言

乌贼墨由乌贼墨囊内的分泌腺合成,并储存于墨囊中,在遇敌时喷出以保护自身安全。墨的量因乌贼种类不同而有所差异,其干重变化的范围约为 1~10 g^[1]。我国对乌贼墨的应用已有悠久的历史,很早就作为一种药材而被载入各种医学典籍,《本草拾遗》有述“腹中墨,主治血刺心痛”,《本经》记载“可收敛止血,固精止带,制酸定痛,除湿敛疮”。乌贼墨为传统中药,如今仍作为止血剂在临床上继续使用,可治疗功能性子宫出血、胃出血等出血性疾病^[2]。近年来,随着水产养殖业和捕捞业技术的提高,乌贼产量不断增加,乌贼加工产业也得到迅猛发展,然而乌贼墨作为加工过程中的废弃物,每年都会有大量积累,丢弃后会造成环境污染和严重的资源浪费^[3],这引起了学术界的广泛关注。特别是 20 世纪 90 年代,日本学者 Takaya 等^[4]从乌贼的墨汁中分离出一组肽聚糖,发现其具有抗肿瘤作用,能够有效抑制肉瘤细胞的生长,开启了近代乌贼墨药用研究的大门。同时,日本国内也将乌贼墨作为一种重要的保健食品原料添加到食物中,目前市场上已经有乌贼墨面包、乌贼墨拉面、乌贼墨意大利面条沙司等产品,深受日本民众的欢迎^[5]。所以,提高对水产加工废弃物乌贼墨的综合利用,既有利于促进海洋药物的研发,提升海洋资源的高值化利用,还能有效保护从事乌贼加工滨海城市的环境,维护沿海陆地与近海生态系统的良性发展。随着对乌贼墨研究和开发的日益深入,目前已发现其具有多种药理作用,特别是从乌贼墨中分离出的乌贼墨多糖,在抗氧化、抗肿瘤、抗化疗、增强免疫等功能活性方面均表现出了良好的作用效果。因此,其潜在的药用价值也成为了当今研究的热门,现对国内外乌贼墨及其活性多糖的研究进展加以综述。

2 乌贼墨的化学成分与性质

乌贼墨是由许多细小的黑色颗粒构成的粘稠状混悬液,每毫升中便含有 200 mg 的黑色颗粒,呈球形,上径变化范围为 120~180 nm,具有高密度的黑色素内核和低密度外壳,内核化学成分为吡咯-5,6-醌(I)与 2-羟基吡咯-5,6-醌(II)的共聚物,有与蛋白结合的和 not 结合的,外核可能是与黑色素相连的蛋白多糖复合物^[6-8]。新鲜的乌贼墨含有蛋白质、糖类、脂类、水和色素等成分,其组成比例约为 6.3:3.0:0.2:75:15.5^[7]。墨汁中的脂肪含量低,43.4% 为不饱和脂肪酸,其中主要是油酸和棕榈油酸;含有天冬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苏氨酸、缬氨酸 16 种氨基酸,总量达 9.92%,其中天冬氨酸含量最高;墨中矿物元素种类也很丰富,拥有钾、钙、铁、锌、铝、钠、镁、锂、锰、镉、钴、铜、锆、锶、钡等 21 种微量元素,其中钙、铁、钠、镁、锌和锶等元素含量较高^[9-12]。有研究指出,乌贼墨内含

有较高的铁和钙元素,可能与其缩短凝血时间和降低纤溶酶的活性有关^[10]。乌贼墨的化学性质也很稳定,不溶于水,可溶于二乙胺和二氯乙醇;在乙醚、酒精、氯仿和强酸等化学试剂中仍可保持颗粒状态,同时也能经受加热、超声波等物理处理,耐受性强^[13]。乌贼墨内含多种酶,如酪氨酸酶、 β -N-乙酰己糖胺酶、壳多糖酶以及一种可催化多巴色素重排的黑色素酶^[14,15]。

3 乌贼墨的生理与药理作用

近些年来,随着对海洋各方面探索的不断深入,研究人员发现海洋中存在许多活性物质,它们结构新颖,有的还具有多种生理和药理作用。乌贼墨就是这样一种广谱、高效的海洋活性物质,它不仅能止血、抗菌、增强免疫,还具有明显的抗肿瘤、抗氧化、抗辐射、提升白细胞等生理活性。这些功能特点,都说明乌贼墨极具药用价值,是很有潜力的海洋药物资源。

3.1 止血作用

乌贼墨的止血功能在我国传统中医领域早已为人们所熟知。近代以来,经过多年临床应用实践也证实了乌贼墨确实具有明显的止血作用,是良好的全身性止血药,对妇科、外科、内科等多种出血症状皆有疗效,且无毒副作用。《中国海洋药物辞典》^[16]记载乌贼墨有“止血、调经之功效,主治功能性子宫出血、咳血、月经过多等症”。王劲松等^[17]也发现乌贼墨可缩短小鼠的凝血时间和出血时间,增强血小板、凝血因子和毛细血管的功能,促凝作用明显。有研究发现,乌贼墨的止血功能机制与其抑制血液中纤溶酶的活性有关,并以此来减少纤维蛋白溶解,进而加速凝血^[18]。

3.2 促进造血功能

众所周知,在治疗肿瘤的过程中,无论是放射治疗或是化学治疗均会抑制机体的造血功能,但乌贼墨能够缓解放疗和化疗的这种抑制作用,促进造血功能。研究发现,乌贼墨制品能够显著提高 $^{60}\text{Co}\gamma$ 辐射模型小鼠 BMNC、CFU-GM、CFU-S、外周 WBC 和血清 SOD 活力,有效拮抗辐射诱导的造血功能损伤^[19]。乌贼墨还能明显增强化疗小鼠的骨髓粒系造血作用,抑制环磷酰胺所致小鼠骨髓有核细胞、造血干细胞、粒单系祖细胞和外周血 WBC 数量的降低,促进其恢复^[20]。乌贼墨促进造血功能可能是通过调节机体的免疫机能,诱导机体产生多种细胞因子,促进造血干细胞、单系祖细胞的增殖,并诱导这些造血细胞向粒单系细胞分化,促进小鼠粒系造血^[21]。

3.3 抗肿瘤与增强免疫

乌贼墨的抗肿瘤作用与其增强免疫功能是息息相关的,而且乌贼墨抗肿瘤活性也主要是通过调节免疫系统功能而产生作用,如增强多种免疫细胞活性、诱导产生多种

抗肿瘤细胞因子,影响细胞内蛋白激酶活性和改变细胞内 Ca^{2+} 浓度。最早是由日本科学家 Sasaki 等^[22]首次发现了乌贼墨中含有抗肿瘤的活性成分,能够有效抑制 Meth-A 与 S_{180} 肉瘤的生长,抑制率分别达 95.48% 和 73.91%,还能在一定程度上抑制移植瘤形成。中国研究人员也证实乌贼墨可增强 S_{180} 荷瘤小鼠的 NK 细胞杀伤活性,通过提高淋巴细胞生成 $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-1 和 $\text{IFN-}\gamma$ 等细胞因子的能力,加快 NK 细胞的活化和分化,诱导 NK 细胞分泌多种细胞因子,从而抑制肿瘤细胞增殖^[23-28]。乌贼墨可以明显提高小鼠 LAK 细胞对 T 淋巴瘤细胞的杀伤活性,增强巨噬细胞吞噬功能,提升 $\text{TNF-}\alpha$ 水平,激活红细胞 C_{3b} 受体,增强红细胞对肿瘤细胞的免疫黏附能力,提高白细胞对肿瘤细胞的杀伤作用,抑制肿瘤细胞转移^[29]。研究还发现乌贼墨可能是通过提高 CD4^{+} T 细胞的数量,促进免疫细胞增殖分化,调节免疫细胞之间的相互作用,增强 CD25 的表达,促进 T 细胞增殖,并激活 T 细胞,进而增强免疫功能^[30,31]。乌贼墨能通过降低细胞内 Ca^{2+} 浓度以及线粒体上 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶的活性,减少 Ca^{2+} 向线粒体的转运,降低 ATP 合成过程中受到 Ca^{2+} 的抑制作用,从而抑制肿瘤细胞的增殖^[32-34];也可以显著降低癌细胞的细胞膜、胞浆及线粒体 TPK 活性,显示其能减少酪氨酸残基磷酸化,抑制癌细胞增殖和促进分化,表明乌贼墨也许含有蛋白激酶抑制剂成分,可能促进癌细胞向正常细胞转化^[35]。最近还发现从乌贼墨中分离出的寡肽和多肽能够诱导前列腺癌细胞发生凋亡,其机制可能是通过激活抑癌基因 p53 和凋亡蛋白酶 Caspase-3,下调 Bcl-2/Bax 比例,从而诱发癌细胞的凋亡级联反应来实现的^[36-38]。

3.4 抗菌与保鲜作用

乌贼墨可作为一种天然的抗菌剂用于保鲜。日本学者在腌制发酵鱿鱼过程中发现,经乌贼墨处理后的鱿鱼肉中挥发性盐基氮的含量比没有加乌贼墨的对照组低,且贮藏期明显延长^[39]。随后我国研究人员对乌贼墨中的抗菌成分进行了分离,得到一种浅黄色粉末,发现它能够有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长^[40]。同时,乌贼墨对黄鳍鲷也表现出较强的保鲜作用,能显著抑制气单胞菌、黄杆菌、芽孢杆菌和肠杆菌 4 种海洋鱼体腐败菌的增殖^[41,42]。乌贼墨提取物还能对一些致病菌如铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌和肺炎克雷伯菌产生明显抑制作用,特别是经正己烷和乙醚提取后分离出的有效成分,抑菌作用最强^[43,44]。在体内,乌贼墨也能发挥抗菌能力,小鼠在灌胃乌贼墨以后,能明显提升对细菌大肠杆菌和真菌熏烟色曲菌的抗感染能力^[45,46]。

3.5 抗氧化作用

乌贼墨本身就具有较强的抗氧化活性,能够有效清除 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{DPPH}$ 等自由基^[47]。研究表明,乌贼墨中的黑色

素具有抵抗光氧化的重要功能,随着黑色素浓度的增加,其光保护作用增强,同时 POV 值也越小,该功能类似于超氧化物歧化酶(SOD)的作用,能够催化 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 和 O_2 ,从而抵抗光氧化损伤^[48]。此外,乌贼墨多肽也具有较好的抗氧化作用,可明显清除 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{DPPH}$ 、ABTS 自由基,半数有效浓度 EC_{50} 分别为 3.30、4.34、3.45 mg/mL,对羟基造成的 DNA 损伤也有较好的保护作用^[49]。研究还发现,乌贼墨在体内也能有效降低机体的氧化损伤。经乌贼墨灌胃以后,实验性高脂血症大鼠血清及肝组织中的 MDA 含量显著降低,SOD 及 GSH-Px 活性明显增强,并降低 $\text{O}_x\text{-LDL}$ 形成,血清中 NO 含量也显著提高,表现出很强的抗氧化活性^[50]。

3.6 其他活性功能

日本研究人员^[51]通过对乌贼墨的进一步研究,发现了乌贼墨的其他活性功能。乌贼墨在经过乙醇抽提、透析、凝胶过滤等过程以后,精制出分子量为 160000 以上的高分子成分 SM I 和分子量约为 39000 的低分子成分 SM II,并将这两种成分分别在大白鼠身上进行药理功能实验,结果显示,SM I 和 SM II 都具有抑制胃液分泌、抗溃疡的功效,并且 SM II 的活性更强,还有抗炎症和抑制浮肿的作用。

4 乌贼墨多糖的功能特性

乌贼墨多糖是从乌贼墨中提取出的一种活性多糖,也是乌贼墨中主要的活性成分之一,因其具有抗氧化、抗肿瘤、抗化疗、增强免疫等多种生物学活性,进而受到国内外研究人员的普遍关注。乌贼墨多糖的研究最早始于 20 世纪的 90 年代,由日本学者在对乌贼墨的有效成分进行分离的过程中,发现了一种具有抗肿瘤活性的蛋白多糖复合体,并对该蛋白多糖复合体的结构进行分析,发现其多糖部分主要是由等摩尔相对分子质量的葡萄糖酸(GlcA)、岩藻糖(Fuc)和 N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)这 3 种单糖组成的重复单元,结构式为 $[-3\text{-GlcA}\beta\text{-1,4-(GalNAc}\alpha\text{-1,3-)}\text{Fuca1-}]_n$ ^[52]。王光^[53]从乌贼墨中提取出一种粗多糖,其平均蛋白含量为 3.07%,硫酸根离子含量为 6.297%,该多糖能够修复化疗导致的造血系统、生殖系统及多种脏器的损伤。乐小炎^[54]基于前人基础,通过酶法提取,乙醇沉淀,再经柱层析纯化,分离得到一种纯多糖,红外光谱显示多糖特征吸收峰,并检测到硫酸根基团特征吸收峰存在,其分子量为 37068 Da。

4.1 抗氧化作用

活性氧自由基是造成细胞和组织损伤的重要因素,能导致细胞中 DNA 的氧化、断裂或碱基错配等现象,并诱发细胞凋亡^[55]。而乌贼墨多糖具有较高的抗氧化能力和还原能力,是一种良好的天然抗氧化剂,在体外就能较好的清除 $\cdot\text{DPPH}$ 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基,缓解紫外辐射导致的 DNA 损

伤^[56,57]。并在一定范围内,乌贼墨多糖的抗氧化能力与质量浓度呈线性正相关关系,其中对·DPPH 自由基和·OH 自由基的半数清除质量浓度分别为 3.61 mg/mL 和 8.06 mg/mL,浓度每增加 2.25 mg/mL,总抗氧化能力均会出现显著性增强^[58,59]。乌贼墨多糖能够提高化疗小鼠血液和组织中的 SOD 和 CAT 活性,降低 MDA 含量^[60]。

4.2 抗肿瘤和增强免疫

Takaya 等^[52,61]在对乌贼墨的抗肿瘤成分进行研究过程中,分离出 IllexinsA、B、C 三种肽聚糖组分,分子量分别约为 100、80 和 40 kD,经过 NMR 和 MS/MC 检测后确认 IllexinsA、B、C 的糖链结构相同,均为 {-3-GlcA β -1,4-(GalNac α -1,3-)Fucal-},只是聚合度不同,其中 IllexinsA 含糖量最高,抗肿瘤活性也较强。研究还发现,乌贼墨肽聚糖对前列腺癌细胞 PC-3 和 DU145 的生长活力具有明显抑制作用,并通过下调 VEGF 蛋白、COX-2 蛋白和 Bcl-2 mRNA 的表达,上调 caspase-3 mRNA 的表达,以此来诱导这两种癌细胞发生凋亡^[62-64]。宗爱珍^[65]发现乌贼墨多糖能明显提高荷瘤小鼠的免疫功能,显著增强 T 淋巴细胞的免疫活性,缓解环磷酰胺导致的免疫系统损伤,明显改善荷瘤小鼠的症状,降低小鼠死亡率。

4.3 抗菌与保鲜功能

乌贼墨多糖对冷藏小鱿鱼有较好的防腐抗菌作用,能延长保质期,且乌贼墨多糖处理组的 pH 值、菌落总数、挥发性盐基氮和感官评分均显著高于空白组,具有较强的保鲜功能^[66]。有研究人员发现,乌贼墨粗提物经 DEAE-纤维素和 Sepharose 4B 分离后获得了一种具有较强抑菌功能的活性成分,其对 4 种海洋鱼体腐败菌气单胞菌、黄杆菌、芽孢杆菌和肠杆菌均具有较强的抑菌效果,经紫外扫描和红外光谱分析,该抑菌物质的主要成分为多糖,且乌贼墨对冷藏白鲷鱼的保鲜功效也与该多糖的抑菌作用有关^[41,67]。此外,食用乌贼墨多糖后能明显改善化疗药物造成的肠道菌群失调,上调有益菌数量,提高肠道抗感染能力^[68]。

4.4 化疗保护作用

乌贼墨多糖可有效缓解化疗药物对多种组织器官的毒性损伤。近年来,刘华忠等^[69,70]对乌贼墨的抗化疗成分进行了研究,已证实乌贼墨多糖对环磷酰胺所致的小鼠肝脏、肾脏、心脏、肺和小肠的毒性损伤有明显的拮抗作用。并且乌贼墨多糖还能保护免疫系统,抑制环磷酰胺对白细胞、血小板以及骨髓 DNA 数目的降低^[71,72]。此外,乌贼墨多糖对生殖系统的保护作用也很明显,可以有效修复化疗后卵巢的组织结构,提高各级卵泡数目,平衡血清中性激素水平^[73];降低环磷酰胺对小鼠睾丸组织的病理损伤,提高生殖器官重量,提高精子数量,降低精子畸形率,改善睾丸组织标志酶活力和氧化还原的稳态,维持血清及辜

丸组织中性激素水平平衡^[74-76]。乌贼墨多糖的抗氧化作用在抗化疗过程中起着十分重要的作用,可能是其抗化疗功能的重要内因。研究显示,乌贼墨多糖能够缓解环磷酰胺诱导的雄性生殖损伤,一方面是通过自身强抗氧化性直接清除辜丸内由环磷酰胺诱导的过量活性氧,维持辜丸内氧化/还原的动态平衡,以此来拮抗环磷酰胺的生殖毒性;另一方面还可作为氧化诱导剂,通过激活 Nrf2/ARE 信号通路,促进下游抗氧化酶 SOD、CAT、GR、GSH-PX 及二相解毒酶 GST 的表达,间接的发挥抗化疗作用^[54]。

5 展 望

近年来,随着人类对自身健康和寿命的重视,一些海洋活性物质以其广泛且高效的活性功能越来越受到人们的关注。乌贼墨作为海洋生物体内的天然产物,内含多种生物活性成分,特别是其中的多糖,具有高效、无毒、广谱的活性功能,已成为当今研究热门。然而,乌贼墨中的活性成分含量相对还比较低,并且某些成分结构复杂,比如多糖,使得在对其进行分离纯化和结构分析时难度较大,再加上目前国内仍普遍使用传统方法对其活性成分进行筛选,不仅效率低,费用高,而且十分影响乌贼墨的研究和推广进程。因此,经过对国内外研究进展的综合,乌贼墨及其活性多糖的研究今后可以从以下 4 个方面入手:(1) 利用现代分离技术如分子蒸馏、膜分离、灌注层析等提高活性成分的分离纯化效果;(2) 开发基因工程受体,比如以癌基因、抑癌基因作为作用靶点进行抗肿瘤活性成分筛选;(3) 利用分子修饰、组合化学技术来提高有效成分活性,并通过计算机辅助药物设计技术来加速药物研制的过程;(4) 利用基因工程技术开发海洋蛋白类药物,即对活性成分的基因进行分离和克隆,并转入高效、廉价的表达系统进行生产,以获得大量高质量的产物。希望通过以上方法和手段能够有效的促进对乌贼墨中活性成分的深入研究和开发,为临床用药、功能性食品以及特殊生物功能材料提供新来源,提升海洋资源的高值化利用。

参考文献

- [1] 董正之. 中国动物志软体动物门头足纲[M]. 北京: 科学出版社, 1988.
Dong ZZ. Chinese Journal of animal Mollusca-Cephalopoda [M]. Beijing: Science Press, 1988.
- [2] 汤宽泽. 海鲜野味与祛病健身[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1993.
Tang KZ. Seafood, game with illnesses and fitness [M]. Shanghai: Shanghai Medical University Press, 1993.
- [3] 王春琳, 蒋霞敏, 邱勇敢. 曼氏无针乌贼海水围塘养殖技术[J]. 中国水产, 2006, 369(8): 50-51.
Wang CL, Jiang XM, Qiu YG. Seawater pond aquaculture technology of *Sepie maindroni de Rochebrune* [J]. Chin Fish, 2006, 369(8): 50-51.
- [4] Takaya Y, Uchisawa H, Matsue H, et al. An investigation of the antitumor peptidoglycan fraction from squid ink [J]. Biol Pharm Bull, 1994, 17(6): 846-849.

- [5] 周秀琴. 乌贼墨面行俏日本[J]. 粮食与油脂, 1996, 4(1): 12.
Zhou XQ. Squid ink noodles are very popular in Japan [J]. Chin J Grain Oils, 1996, 4(1): 12.
- [6] 马维娜, 杨吉贤. 乌贼墨的研究[J]. 长春中医学院学报, 1996, 12(3): 52.
MA WN, Yang JX. The research of squid ink [J]. J Changchun Coll Tradit Chin Med, 1996, 12(3): 52.
- [7] 李孝东, 王凤山, 宋允胜, 等. 乌贼墨糖胺聚糖的制备与理化性质研究[J]. 中国海洋药物, 2004, 24(4): 24–28.
Li XD, Wang FS, Song YS, *et al.* Study on preparation and properties of glycosaminoglycans from the ink of *Sepie maindroni de Rochebrune* [J]. Chin J Mar Drugs, 2004, 24(4): 24–28.
- [8] 陈士国. 鱿鱼墨多糖和黑色素的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
Chen SG. Study on the polysaccharide and melanin from squid (*Ommastrephes Bartrami*) ink [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007.
- [9] 杜铁平, 周培根. 乌贼墨研究概况[J]. 食品研究与开发, 2002, 23(6): 16–18.
Du TP, Zhou PG. General situation of squid ink [J]. Chin Food Res Dev, 2002, 23(6): 16–18.
- [10] 吕昌龙, 李宁和, 钟建国. 乌贼墨中微量元素含量的测定[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(9): 555.
Lv CL, Li NH, Zhong JG. Determination of trace elements content in sepia ink [J]. China J Chin Mater Med, 1995, 20(9): 555.
- [11] 赵辉, 姚丽, 刘玉兰, 等. 乌贼墨中微量元素含量的测定[J]. 山东医药工业, 1999, 18(3): 6–7.
Zhao H, Yao L, Liu YL, *et al.* Determination of trace elements in squid ink [J]. Shandong Pharm Ind, 1999, 18(3): 6–7.
- [12] 郑高利, 张信岳, 周彦钢, 等. 鱿鱼墨和乌贼墨部分成分及微量元素含量比较[J]. 中国海洋药物, 2002, 21(3): 12–14.
Zheng GL, Zhang XY, Zhou YG, *et al.* Comparison between partial components and trace elements in sepia and squid ink [J]. Chin J Mar Drugs, 2002, 21(3): 12–14.
- [13] 蔡祖花, 王凤山. 乌贼墨的药用研究概况[J]. 中国海洋药物, 2000, 19(5): 46–49.
Cai ZH, Wang FS. Research situation of *Sepia* medicinal [J]. Chin J Mar Drugs, 2000, 19(5): 46–49.
- [14] Palumbo A, d'Ischia M, Misuraca G, *et al.* A new dopachrome-rearranging enzyme from the ejected ink of the cuttlefish *Sepia officinalis* [J]. Biochem J, 1994, 299: 839–844.
- [15] 郑校先, 戚晓玉, 周培根, 等. 乌贼墨中多酚氧化酶的分离及纯化[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10 (2): 154–157.
Zheng XX, Qi XY, Zhou PG, *et al.* Purification of polyphenol oxidase from cuttlefish ink [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2001, 10 (2): 154–157.
- [16] 姜凤吾, 张玉顺. 中国海洋药物辞典[M]. 北京: 海洋出版社, 1994.
Jang FW, Zhang YS. Dictionary of marine drugs in China [M]. Beijing: China Ocean Press, 1994.
- [17] 王劲松, 王艳, 周培根, 等. 乌贼墨凝血作用的研究[J]. 北京水产, 2007, (3): 19–21.
Wang JS, Wang Y, Zhou PG, *et al.* Study on the coagulation effect of sepia ink [J]. J Beijing Fish, 2007, (3): 19–21.
- [18] 谢光临, 吕昌龙, 洪明标. 乌贼墨促凝血作用机制的实验研究[J]. 中国医科大学学报, 1994, 23(6): 530–531.
Xie GL, Lv CL, Hong MB. Experimental study on the promoting coagulation mechanism of sepia ink [J]. J China Med Univ, 1994, 23(6): 530–531.
- [19] 雷敏, 王静凤, 李兆杰, 等. 乌贼墨制品对⁶⁰Co γ 辐射损伤小鼠造血功能的影响[J]. 食品科学, 2007, 28(2): 293–297.
Lei M, Wang JF, Li ZJ, *et al.* Effects of sepia product on hematopoiesis promotion in ⁶⁰Co γ irradiated mice [J]. Food Sci, 2007, 28(2): 293–297.
- [20] 雷敏, 王静凤, 逢龙, 等. 乌贼墨对小鼠造血干细胞、粒-单系祖细胞及外周白细胞的影响[J]. 中国海洋药物, 2006, 25(5): 14–18.
Lei M, Wang JF, Pang L, *et al.* Effects of sepia on hematopoietic stem cells, granulocyte and monocyte progenitor cells and peripheral WBC in mice [J]. Chin J Mar Drugs, 2006, 25(5): 14–18.
- [21] 逢龙, 王静凤, 雷敏, 等. 乌贼墨制品促进小鼠造血功能的实验研究[J]. 营养学报, 2007, 29(1): 87–90.
Pang L, Wang JF, Lei M, *et al.* The experimental studies on the effects of sepia products on hematopoiesis in mice [J]. Chin Acta Nutr Sinica, 2007, 29(1): 87–90.
- [22] Sasaki J, Ishita K, Takaya Y, *et al.* Anti-tumor activity of squid ink [J]. J Nutr Sci Vitaminol, 1997, 43(4): 455–461.
- [23] 吕昌龙. 乌贼墨及其提取物的免疫刺激作用[J]. 中国海洋药物, 1999, 18(2): 32–34.
Lv CL. The immune stimulating effects of squid ink and its extract [J]. Chin J Mar Drugs, 1999, 18(2): 32–34.
- [24] 谢光麟, 赫明昌. 乌贼墨对小鼠 NK 细胞杀伤活性的影响和抑瘤作用的研究[J]. 中国海洋药物, 2002, 21(5): 37–39.
Xie GL, He MC. Studies of sepia influence on NK cells activity and effect on inhibition tumor in mice [J]. Chin J Mar Drugs, 2002, 21(5): 37–39.
- [25] 谢光麟. 乌贼墨对小鼠生成白细胞介素-2 的影响[J]. 中国海洋药物, 1999, 18(1): 11–12.
Xie GL. The effects of sepia ink on the generation of IL-2 in mice [J]. Chin J Mar Drugs, 1999, 18(1): 11–12.
- [26] 王群, 吕昌龙. 乌贼墨诱导小鼠 IFN- γ 及调节 LAK 细胞活性的研究[J]. 中国海洋药物, 2001, 20(1): 37–39.
Wang Q, Lv CL. Study on the induction of IFN- γ and LAK cells activity in mice stimulated with sepia [J]. Chin J Mar Drugs, 2001, 20(1): 37–39.
- [27] 吕昌龙, 谢光临, 洪明标, 等. 乌贼墨对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国海洋药物, 1994, 13(4): 23–23.
Lv CL, Xie GL, Hong MB, *et al.* Effects of Sepia ink on immune function in mice [J]. Chin J Mar Drugs, 1994, 13(4): 23–23.
- [28] 吕昌龙, 阎建忠. 乌贼墨提取物对体内巨噬细胞的激活作用[J]. 中国医科大学学报, 1999, 28(6): 410–411.
Lv CL, Yan JZ. Activation of squid ink extracts on macrophages *in vivo* [J]. J China Med Univ, 1999, 28(6): 410–411.
- [29] 刘成玉, 滕青. 乌贼墨对红细胞免疫粘附肿瘤细胞能力的影响[J]. 中国海洋药物, 1996, 15(3): 14–16.
Liu CY, Teng Q. Effects of sepia ink on the ability of RBC adhering tumor cells [J]. Chin J Mar Drugs, 1996, 15(3): 14–16.
- [30] 王欣, 李国明. 乌贼墨对小鼠 T 细胞亚群和 T 细胞活化的影响[J]. 中国医药导报, 2008, 5(21): 25–26.
Wang X, Li GM. Reseach on the effect of the squid ink on T-lymphocyte subsets and the activation of T cell of KM mice [J]. China Med Her, 2008, 5(21): 25–26.
- [31] 吕昌龙. 乌贼墨对小鼠肿瘤坏死因子的诱导作用[J]. 中国海洋药物,

- 1996, 15(1): 10–12.
- Lv CL. The induction effects of mouse TNF by sepia [J]. Chin J Mar Drugs, 1996, 15(1): 10–12.
- [32] 王成斌, 孙克任, 谢克勤, 等. 乌贼墨对 H_{22} 癌细胞内 Ca^{2+} 浓度、核膜 Ca^{2+}/Mg^{2+} -ATP 酶活性及 c-jun 表达的影响[J]. 卫生研究, 2000, 29(2): 34–36.
- Wang CB, Sun KR, Xie KQ, *et al.* Effect of sepia on intracellular Ca^{2+} concentration, nuclear Ca^{2+}/Mg^{2+} -ATPase activities and c-jun expression in H_{22} cancer cells [J]. J Hyg Res, 2000, 29(2): 34–36.
- [33] 王成斌, 赵丽, 孙克任, 等. 乌贼墨对 H_{22} 癌细胞内 Ca^{2+} 浓度、细胞核 Ca^{2+}/Mg^{2+} -ATP 酶活性及 c-fos 表达的影响[J]. 山东医科大学学报, 2000, 38(4): 420–422.
- Wang CB, Zhao L, Sun KR, *et al.* The effects of sepia on intracellular Ca^{2+} concentration, nuclear Ca^{2+}/Mg^{2+} -ATPase activities and c-fos expression in H_{22} cancer cells [J]. J Shandong Univ (Health Sci), 2000, 38(4): 420–422.
- [34] 王成斌, 孙克任, 谢克勤, 等. 乌贼墨对 H_{22} 癌细胞内 Ca^{2+} 、ATP 浓度及线粒体 Ca^{2+}/Mg^{2+} -ATP 酶活性的影响[J]. 中国海洋药物, 1999, 18(3): 11–14.
- Wang CB, Sun KR, Xie KQ, *et al.* The effect of sepia on intracellular Ca^{2+} , ATP concentration and mitochondrial Ca^{2+}/Mg^{2+} -ATPase activities in H_{22} cancer cells [J]. Chin J Mar Drugs, 1999, 18(3): 11–14.
- [35] 侯雪云, 孙克任. 乌贼墨对 H_{22} 癌细胞 TPK, PKC 及 PKA 活性的影响[J]. 中国海洋药物, 2001, 20(6): 17–19.
- Hou XY, Sun KR. The effect of sepia on the activity of TPK, PKC and PKA in H_{22} cancer cells [J]. Chin J Mar Drugs, 2001, 20(6): 17–19.
- [36] Huang F, Yang Z, Yu D, *et al.* Sepia ink oligopeptide induces apoptosis in prostate cancer cell lines via caspase-3 activation and elevation of Bax/Bcl-2 ratio [J]. Mar Drugs, 2012, 10(10): 2153–2165.
- [37] Ding GF, Huang FF, Yang ZS, *et al.* Anticancer activity of an oligopeptide isolated from hydrolysates of Sepia ink [J]. Chin J Nat Med, 2011, 9(2): 151–155.
- [38] 景奕文, 杨最素, 黄芳芳, 等. 乌贼墨多肽诱导人前列腺癌 DU-145 细胞凋亡的机制研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(9): 1–6.
- Jing YW, Yang ZS, Huang FF, *et al.* Mechanism of sepia ink polypeptide-induced apoptosis in DU-145 prostate cancer cells [J]. Mod Food Sci Technol, 2014, 30(9): 1–6.
- [39] Yamanaka H, Kawashima Y, Ushio H, *et al.* Comparative biochemical studies on extractive components and antibacterial activities of squid and octopus ink [J]. J Cookery Sci Japan, 1998, 31(3): 206–213.
- [40] 杜铁平, 周培根, 卫小怡, 等. 乌贼墨抗菌活性的分离与研究[J]. 现代食品科技, 2005, 21(1): 69–71.
- Du TP, Zhou PG, Wei XY, *et al.* The antibacterial study of extract from ink-sac of cuttlefish on bacteria [J]. Mod Food Sci Technol, 2005, 21(1): 69–71.
- [41] 师莉莎, 刘华忠, 钟杰平, 等. 乌贼墨抑制海洋鱼体腐败菌活性成分的分离[J]. 食品工业科技, 2012, 33(11): 120–123.
- Shi LS, Liu HZ, Zhong JP, *et al.* Isolation of the inhibitory compounds from cuttlefish ink against putrefying bacteria derived from marine fish [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(11): 120–123.
- [42] Shi LS, Liu HZ, Zhong JP, *et al.* Fresh-keeping effects of melanin-free extract from squid ink on yellowfin sea bream (*Sparus latus*) during cold storage [J]. J Aquat Food Prod T, 2015, 24(3): 199–212.
- [43] Nithya M, Ambikapathy V, Panneerselvam A. Effect of pharaoh's cuttlefish ink against bacterial pathogens [J]. Asian J Plant Sci Res, 2011, 1(4): 49–55.
- [44] Smiline ASG, Priyadarshini JV, Suba KP, *et al.* Antibacterial effect of squid ink on ESBL producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* [J]. Indian J Mar Sci, 2012, 41(4): 338–343.
- [45] 王欣, 李国明. 乌贼墨的抗感染作用[J]. 中国医药导报, 2008, 5(22): 31–32.
- Wang X, Li GM. Research on the effect of antibiosis *in vitro* and anti-infection of the squid ink [J]. China Med Her, 2008, 5(22): 31–32.
- [46] Fahmy SR, Soliman AM, Ali EM. Antifungal and antihepatotoxic effects of sepia ink extract against oxidative stress as a risk factor of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic mice [J]. Afr J Tradit Complem, 2014, 11(3): 148–159.
- [47] 罗萍, 师莉莎, 刘华忠. 乌贼墨多糖的体外抗氧化作用[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(8): 1–4.
- Luo P, Shi LS, Liu HZ. Antioxidant effects of polysaccharides from squid ink *in vitro* [J]. Food Res Dev, 2013, 34(8): 1–4.
- [48] 李和生, 李晓, 董亚辉, 等. 乌贼墨黑色素的超微结构及抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(10): 62–66.
- Li HS, Li X, Dong YH, *et al.* Study on ultrastructure and antioxidant activity of Sepia melanin [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2012, 12(10): 62–66.
- [49] 景奕文, 杨最素, 丁国芳, 等. 乌贼墨多肽体外抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(27): 10971–10973.
- Jing YW, Yang ZS, Ding GF, *et al.* Study on the antioxidant activity of sepia ink peptides *in vitro* [J]. J Anhui Agric Sci, 2013, 41(27): 10971–10973.
- [50] 雷敏, 王静凤, 逢龙, 等. 乌贼墨对高脂血症大鼠血脂代谢和抗氧化能力的影响[J]. 中国海洋药物, 2007, 26(3): 30–33.
- Lei M, Wang JF, Feng L, *et al.* Effects of sepia on the metabolism of blood lipid and antioxidation ability in hyperlipidemia rats [J]. Chin J Mar Drugs, 2007, 26(3): 30–33.
- [51] Mimura RT, Maeda K, Hariyama H, *et al.* Studies on biological activities of melanin from marine animals. I. Purification of melanin from *Ommastrephes bartrami* Lesuel and its inhibitory activity on gastric juice secretion in rats [J]. Chem Pharm Bull, 1982, 30(4): 1381–1386.
- [52] Takaya Y, Uchisawa H, Hanamatsu K, *et al.* Novel fucose-rich glycosaminoglycans from squid ink bearing repeating unit of trisaccharide structure (-6GalNAc α 1-3Glc α 1-3Fuc α 1-) [J]. Biochem Bioph Res Co, 1994, 198(2): 560–567.
- [53] 王光. 乌贼墨多糖的化疗保护作用研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2010.
- Wang G. Study on protective effects of sepia ink polysaccharides on chemotherapy [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2010.
- [54] 乐小炎. 乌贼墨多糖干预环磷酰胺介导睾丸氧化应激损伤的 Nrf2/ARE 调控机制研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2014.
- Le XY. Nrf2/ARE signal pathway participates in the interventional effects of squid ink polysaccharides on cyclophosphamide-associated oxidative damage in testis [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2014.
- [55] 夏寿萱, 魏康, 章杨培. 分子放射生物学[M]. 北京: 原子能出版社, 1992.
- Xia SX, Wei K, Zhang YP. Molecular radiobiology [M]. Beijing: Atom Energy Press, 1992.

- [56] 罗萍, 师莉莎, 刘华忠. 乌贼墨多糖的体外抗氧化作用[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(8): 1-4.
- Luo P, Shi LS, Liu HZ. Antioxidant effects of polysaccharides from squid ink *in vitro* [J]. Food Res Dev, 2013, 34(8): 1-4.
- [57] Luo P, Liu HZ. Antioxidant ability of squid ink polysaccharides as well as their protective effects on deoxyribonucleic acid DNA damage *in vitro* [J]. Afr J Pharm Pharm, 2013, 7(21): 1382-1388.
- [58] Liu HZ, Luo P, Chen SH, *et al.* Effects of squid ink on growth performance, antioxidant functions and immunity in growing broiler chickens [J]. Asian Austral J Anim, 2011, 24(12): 1752-1756.
- [59] 孙楠楠, 李和生, 张丽媛, 等. 乌贼墨汁多糖的提取及抗氧化作用研究[J]. 食品科学, 2012, 32(22): 95-99.
- Sun NN, Li HS, Zhang LY, *et al.* Extraction and antioxidant activity of polysaccharides from squid ink [J]. Food Sci, 2012, 32(22): 95-99.
- [60] 闵诗刚, 王光, 钟杰平, 等. 乌贼墨多糖对大鼠外周血及血液中抗氧化能力影响[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(1): 123-125.
- Min SG, Wang G, Zhong JP, *et al.* effects of squid ink polysaccharides on peripheral blood and anti-oxidative ability in serum of rats [J]. Food Res Dev, 2011, 32(1): 123-125.
- [61] Takaya Y, Uchisawa H, Narumi F, *et al.* Illexins A, B, and C from squid ink should have a branched structure [J]. Biochem Bioph Res Co, 1996, 226(2): 335-338.
- [62] 王曦. 乌贼墨肽聚糖的抗肿瘤作用[D]. 上海: 第二军医大学, 2005.
- Wang X. the anti-tumor effects of squid ink peptidoglycan [D]. Shanghai: Second Military Medical University, 2005.
- [63] 郑玉寅, 杨永芳, 丁国芳, 等. 乌贼墨肽聚糖的制备工艺与体外抗前列腺癌研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(1): 111-113.
- Zheng YY, Yang YF, Ding GF, *et al.* The peptidoglycan extracted from ink of sepia and the inhibition against the growth of prostatic cancer *in vitro* [J]. Lishizhen Med Mater M Res, 2012, 23(1): 111-113.
- [64] 郑玉寅, 杨最素, 闫海强, 等. 乌贼墨肽聚糖对前列腺癌 PC-3, DU-145 细胞作用机制研究[J]. 食品科学, 2013, 34(13): 251-256.
- Zheng YY, Yang ZS, Yan HQ, *et al.* Apoptosis induction and underlying mechanism of peptidoglycan from cuttlefish ink on prostate cancer PC-3 and DU-145 cells [J]. Food Sci, 2013, 34(13): 251-256.
- [65] 宗爱珍. 硫酸化乌贼墨多糖抗肿瘤生长和转移的活性及机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- Zong AZ. Studies on the anti-cancer and anti-metastatic effects and mechanisms of sulfated polysaccharide of Sepietta maindroni ink [D]. Jinan: Shandong University, 2013.
- [66] 吴金龙, 罗剑秋, 刘华忠, 等. 乌贼墨多糖对冷藏鱿鱼的防腐保鲜作用研究[J]. 食品科学, 2010, 31(10): 304-307.
- Wu JL, Luo JQ, Liu HZ, *et al.* Antiseptic and Preservative Effect of Sepia Ink Polysaccharide on Squid during Cold Storage [J]. Food Sci, 2010, 31(10): 304-307.
- [67] 师莉莎. 乌贼墨提取物对白鲷的冷藏保鲜作用[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012.
- Shi LS. Fresh-keeping effect of melanin-free extract from sepia ink towards white snapper [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012.
- [68] Tang Q, Zuo T, Lu S, *et al.* Dietary squid ink polysaccharides ameliorated the intestinal microflora dysfunction in mice undergoing chemotherapy [J]. Food Funct, 2014, 5(10): 2529-2535.
- [69] 刘华忠, 王光, 吴金龙, 等. 乌贼墨多糖对环磷酰胺致小鼠部分脏器损伤的缓解效应[J]. 中国现代应用药学, 2012, 29(2): 89-93.
- Liu HZ, Wang G, Wu JL, *et al.* Amelioratory effects of sepia ink polysaccharides on partial internal organs injured by cyclophosphamide [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2012, 29(2): 89-93.
- [70] Zuo T, Cao L, Li XM, *et al.* The squid ink polysaccharides protect tight junctions and adherens junctions from chemotherapeutic injury in the small intestinal epithelium of mice [J]. Nutr Cancer, 2015, 67(2): 364-371.
- [71] 王光, 钟杰平, 刘华忠. 乌贼墨多糖缓解环磷酰胺致大鼠骨髓功能抑制作用的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(17): 365-367.
- Wang G, Zhong JP, Liu HZ. Study on squid ink polysaccharides weakens the suppression of bone marrow induced by cyclophosphamide in rats [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(17): 365-367.
- [72] Zhong JP, Wang G, Shang JH, *et al.* Protective effects of squid ink extract towards hemopoietic injuries induced by cyclophosphamine [J]. Mar Drugs, 2009, 7(1): 9-18.
- [73] 谷毅鹏, 张云波, 刘华忠, 等. 乌贼墨多糖对环磷酰胺致小鼠卵巢损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2014, 35(17): 358-361.
- Gu YP, Zhang YB, Liu HZ, *et al.* Protective effects of squid ink polysaccharides against cyclophosphamide-induced ovarian damage in mice [J]. Sci Technol Food Ind, 2014, 35(17): 358-361.
- [74] 乐小炎, 原林, 林少杰, 等. 乌贼墨多糖的制备及对睾丸化疗性损伤的保护作用[J]. 食品工业科技, 2013, 34(17): 342-344.
- Le XY, Yuan L, Lin SJ, *et al.* Preparation of squid ink polysaccharides and its protection against chemotherapeutic injury on testis [J]. Sci Technol Food Ind, 2013, 34(17): 342-344.
- [75] 乐小炎, 许泽旋, 师莉莎. 乌贼墨多糖对环磷酰胺损伤小鼠生精功能的影响[J]. 中国海洋药物, 2012, 31(5): 23-26.
- Le XY, Xu ZX, Shi LS. Effects of sepia ink polysaccharides on spermatogenesis injured by chemotherapeutic [J]. Chin J Mar Drugs, 2012, 31(5): 23-26.
- [76] Le XY, Luo P, Gu YP, *et al.* Interventional effects of squid ink polysaccharides on cyclophosphamide-associated testicular damage in mice [J]. Br Med J, 2014, 116(5): 334-339.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



谷毅鹏, 硕士, 主要研究方向为海洋活性物质研究。
E-mail: goole1020@163.com



刘华忠, 教授, 主要研究方向为海洋活性物质研究。
E-mail: liuhzbs@163.com