

类菌胞素氨基酸的结构特征、分布、 制备技术及生物活性研究进展

王 杰, 张金荣*, 严小军

宁波大学海洋学院教育部应用海洋生物技术重点实验室, 宁波 315211

摘要: 类菌胞素氨基酸(mycosporine-like amino acids, MAAs)是一类水生生物次级代谢产物,广泛存在于多种水生生物中。在化学结构上,MAAs 是以环己烯酮为基本骨架,与多种类型氨基酸通过缩合作用而形成水溶性活性物质。据报道,类菌胞素氨基酸具有罕见的紫外光防护作用,近年来已倍受重视,成为研究热点。本文主要介绍类菌胞素氨基酸的结构、分布、制备技术、生物活性及其在化妆品领域应用的研究进展。

关键词: 类菌胞素氨基酸;紫外线防护;分布;制备技术;生物活性

中图分类号: R282.77

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.2.027

Review on Chemical Structure, Distribution, Preparation Technology, Biological Activity of Mycosporine-like Amino Acids

WANG Jie, ZHANG Jin-rong*, YAN Xiao-jun

Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: Mycosporine-like amino acids (MAAs) are a class of secondary metabolites of aquatic organisms and widely found in many kinds of aquatic organisms. In the chemical structure, they are water-soluble active substances formed through condensation of cyclohexenone, the basic skeleton, with a variety of amino acids. According to reports, MAAs exhibited rare photoprotective effect. In recent years, they have been taken more and more attention and have becoming a research focus. This paper mainly introduced the research on the chemical structure, distribution, preparative technique and bioactivities of MAAs and their application in cosmetics.

Key words: mycosporine-like amino acids; UV-protective; distribution; preparation; biological activity

类菌胞素氨基酸(mycosporine-like amino acids, MAAs)是一类以环己烯酮为基本骨架,与多种类型氨基酸通过缩合作用而形成的水溶性活性物质^[1]。在自然界中,类菌胞素氨基酸广泛分布于水生生物中,尤其在红藻纲藻类中含量丰富,如条斑紫菜中的类菌胞素氨基酸含量高达干藻重量的 9.065%^[2]。目前,从自然界中提取、分离并鉴定类菌胞素氨基酸类成分共 29 种。近年来,针对类菌胞素氨基酸的来源、分布、提取与纯化方法、分析检测方法、生物活性及其在化妆品领域应用等方面所进行的研究一直是研究热点。一方面是因为水生生物资源丰富,尤其是红藻的养殖资源充足,为类菌胞素氨基酸的研究提供了充沛的原料来源;另一方面,类菌胞素氨基酸

活性独特,在紫外线防护方面展现出罕见的活性优势,在化妆品领域的成功应用将带来巨大的经济价值。尽管类菌胞素氨基酸是一类具有高附加值的活性物质,但因其水溶性强,提取分离获得高纯度类菌胞素氨基酸较为困难,使得类菌胞素氨基酸的广泛应用受到了限制。本文就类菌胞素氨基酸的结构、分布、制备技术、生物活性及其在化妆品领域应用等方面的研究进展进行了综述。

1 类菌胞素氨基酸的种类、化学结构和稳定性

1.1 类菌胞素氨基酸的种类和化学结构

类菌胞素氨基酸(mycosporine-like aminoacids, MAAs)是以环己烯酮为基本骨架,与不同类型氨基酸通过胺缩合作用而形成的一大类物质。分子中羧基、羟基等官能团的存在,使其具有水溶性;分子中甲基等取代基的存在,使其具有醇溶性。绝大多数

收稿日期: 2016-11-14 接受日期: 2016-12-29

基金项目: 浙江省海洋生物技术产业创新团队(20121009-2);宁波市海洋藻类资源高效开发利用创新团队(2011B81007);国家自然科学基金(41406163)

* 通讯作者 Tel: 86-574-8760-0458; E-mail: zhangjinrong@nbu.edu.cn

类菌胞素氨基酸分子都有一个共同的特征,具有如图 1 所示的母核结构:C1 位置多被氧原子、亚氨基取代, R_3 多被甲基(-CH₃)取代, R_4 多被氢原子取代,C5 位置多被羟基(-OH)取代。分子中 R_1 、 R_2 的差异导致分子种类的不同,进而导致分子最大吸收的不同。受共轭双键的数目、位置以及侧链上活性取代基团(C3 位置上连接的不同氨基酸、氨基醇和其他氨基功能团)的影响,大多数 MAAs 对波长在 310 ~ 362nm 的紫外光具有强的吸收能力。目前,从

自然界生物中提取、分离并鉴定类菌胞素氨基酸类成分共 29 种,其最大吸收波长如表 1 所示,化学结构如图 2 所示。其中,11 个化合物的命名中含有 mycosporine。

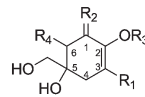


图 1 类菌胞素氨基酸的母核结构

Fig. 1 Core structure of MAAs

表 1 类菌胞素氨基酸的种类

Table 1 Types of mycosporine-like amino acids

| 序号 No. | 名称 Name | 最大吸收值 λ_{max} (nm) | 参考文献 Reference |
|-----------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| 1 | Mycosporine-glycine | 310 | 3,4 |
| 2 | Mycosporine-glycine-glycine | 334 | 5 |
| 3 | Mycosporine-glycine-valine | 335 | 3,5 |
| 4 | Mycosporine-serine sulphateinol | 310 | 6 |
| 5 | Mycosporine-methylamine-serine | 327 | 3,5 |
| 6 | Mycosporine-methylamine-threonine | 327 | 3,5 |
| 7 | Mycosporine-glutomicol | (-) | 7 |
| 8 | Mycosporine-glutominol | (-) | 7 |
| 9 | Mycosporine-glutamine | 310 | 6 |
| 10 | Mycosporine-glutamic acid-glycine | 330 | 3,5 |
| 11 | Mycosporine-aurine | 309 | 5 |
| 12 | Palythine | 320 | 3,4 |
| 13 | Palythene | 360 | 3,4 |
| 14 | Palythinol | 332 | 3,5 |
| 15 | <i>E</i> -Palythenic Acid | 337 | 4 |
| 16 | <i>Z</i> -Palythenic Acid | 337 | 4 |
| 17 | Palythine-Serine | 320 | 3 |
| 18 | Palythine-Serine sulphate | 321 | 4,8 |
| 19 | Palythine-Threonine sulphate | 321 | 4,8 |
| 20 | Shinorine | 334 | 3,4 |
| 21 | Porphyra-334 | 334 | 3,5 |
| 22 | Asterina-330 | 330 | 3,5 |
| 23 | Usujirene | 357 | 3,5 |
| 24 | Gadusol | 294 | 5,8 |
| 25 | Deoxygadusol | 268 | 5,8 |
| 26 | 4-Deoxygadusol | 333 | 9 |
| 27 | Euhalothece-362 | 362 | 3 |
| 28 | Prasiolin | 324 | 10 |
| 29 | Collemin A | 311 | 11 |

注:(-):文献中无此数值。

Note:(-):No data in the document.

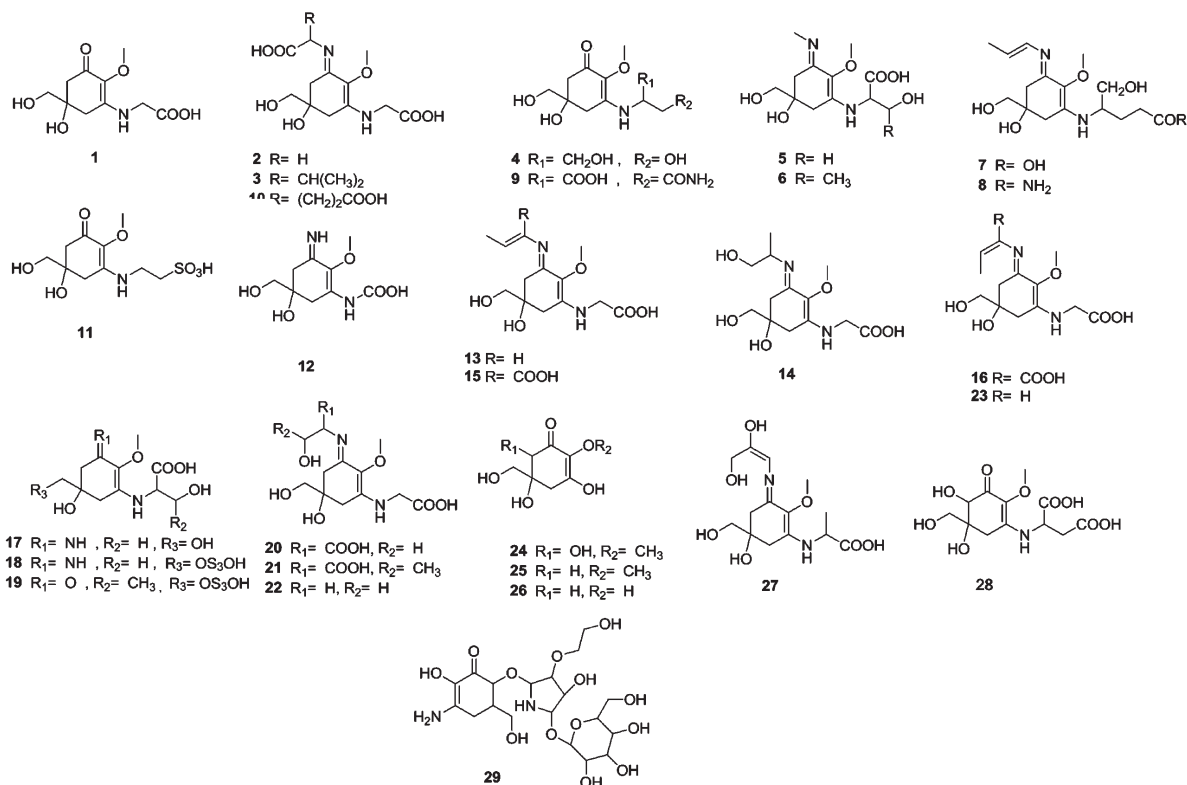


图2 类菌胞素氨基酸的化学结构

Fig. 2 Chemical structures of MAAs

1.2 类菌胞素氨基酸的稳定性

类菌胞素氨基酸的稳定性包括两方面:自身的化学稳定性及其在紫外光照下的光稳定性或光反应性。

1.2.1 类菌胞素氨基酸的化学稳定性

MAAs 是一类亲水性物质,通过水解、脱水等化学反应,能够形成结构稳定的酯类化合物。pH 值、温度、离子强度等因素对 MAAs 的稳定性及其紫外吸收特性均可造成影响。张朝辉研究了 pH 值和温度对 porphyra-334 紫外吸收特性的影响,结果发现,随着酸性的增强,其紫外吸光值呈下降趋势。强碱条件下,其吸光值随着碱性的增强而下降趋势更显著。当 pH 在 1~11 时,随着温度升高,porphyra-334 紫外吸光值降低^[12]。贺庆梅考察了 pH 值、温度对广东产紫菜、江蓠中 MAAs 稳定性的影响,结果发现,当 pH ≤ 2 时,MAAs 在不同温度下,随着时间的增加吸光值均呈下降趋势。弱酸或弱碱条件下,pH 对吸光值基本没有影响。当 pH ≥ 10,随着温度升高,MAAs 紫外吸光值下降趋势较为显著^[13]。

1.2.2 类菌胞素氨基酸的光稳定性

MAAs 的抗氧化活性在其稳定性中起到显著作

用。Dunlap WC 等^[14]研究发现,相比于含有亚氨基 (=NH) 的 MAAs: shinorine、porphyra-334、palythine、asterina-330、palythanol 和 mycosporine-glycine 在稳定自由基 AAPH 反应中始终保持在初始浓度,mycosporine-glycine 则在反应中被消耗。

Sinha RP 等^[15]研究发现,当波长在 250~700 nm 范围内,连续 6 h 的 UVB、UVA 和 PAR 组合照射后,*Gracilaria cornea* 粗提取物中 porphyra-334 的紫外吸光值仍然保持不变。24h 照射后,峰值强度出现了显著下降,72h 后发现仍存在少量 porphyra-334。CondeFR 等^[16,17]测定了紫菜属中提取和纯化的 porphyra-334 和 shinorine 水溶液的光分解率,发现其吸收光谱在持续光解后相对稳定。此外,用 HPLC-PDAD 分析 porphyra-334 溶液时,MAAs 衍生物的缺失表明其具有高的光稳定性。他们指出通过 LC/MS 分析观察 MAAs 的降解产物,发现 MAAs 降解源自氨基部分。因此,MAAs 光稳定性的不同可能与 R 基团的化学性质有关。光照、氧气、光敏剂类型、紫外照射以及在深海中溶解的有机化合物,都会影响 MAAs 的光降解速率。

MAAs 对紫外光 (UVA 和 UVB) 具有较高的摩

尔吸收系数,且 MAAs 在紫菜中的含量与外界环境中 UV 辐射强度呈正相关性^[18]。基于 MAAs 在海洋生物中的含量与外部环境中紫外辐射强度呈正相关性,MAAs 对海洋生物的紫外光防护作用越来越引起人们的关注,其对动物和人体皮肤细胞抗氧化、防晒方面的作用也已成为研究的焦点。

2 类菌胞素氨基酸在生物界的分布与含量

MAAs 广泛存在于水生生物中,尤其在海洋红藻、蓝藻、浮游植物和海洋微生物中分布较为普遍。其中大多数藻类中均含有 porphyra-334、shinorine^[19]。asterina-330 普遍存在于红藻纲^[19,20], palythine 普遍存在于甲藻纲^[21-22]。红藻纲藻类中的 MAAs 含量较为丰富,红藻条斑紫菜中类菌胞素氨基酸的含量高达干藻重量的 9.065%^[2]。MAAs 已成功从多种海洋藻类中分离获得,如红藻、蓝藻、绿藻和甲藻等^[23,24]。

浮游植物、真菌、蓝藻等一些海洋藻类可以自身合成 MAAs 化合物,而海洋无脊椎动物、浮游动物、鱼类等其他海洋生物则是通过食物摄入来实现体内的积累^[25-27]。研究证实,在红藻中,已发现 20 余种不同结构的 MAAs 化合物,其中 asterina-330、porphyra-334、shinorine 在大多数红藻中最为常见^[28]。少数种类的 MAAs 在绿藻、褐藻、蓝藻、微生物等其他海洋生物中均有发现^[29]。

2.1 藻类中类菌胞素氨基酸的分布

2.1.1 红藻纲

红藻纲是 MAAs 含量最高和密集度最大的藻纲,其中主要的 MAAs 种类是 asterina-330、porphyra-334 和 shinorine,尤在紫菜和麒麟菜(属)中含量丰富。不同地区的红藻中 MAAs 的种类也不相同。我国的研究人员已对我国的一些经济红藻中 MAAs 的种类进行了鉴定。张朝辉^[12]从日本产条斑紫菜中分离出 porphyra-334。贺庆梅等^[13]对我国广东产紫菜和海南的江蓠的主要成分做了鉴定,发现其主要成分为 porphyra-334、shinorine。许志恒等^[2]对我国福建产紫菜中 MAAs 进行了深入的研究,证明了紫菜中主要的 MAAs 为 porphyra-334 和 shinorine。

2.1.2 蓝藻纲

蓝藻纲中的许多藻类含有 MAAs^[30,31],例如:项圈藻属、念珠藻属、颤藻属等。蓝藻中 MAAs 种类主要有 asterina-330、mycosporine-glycine、porphyra-334

和 shinorine^[32,33]。刘正文等^[1]从铜绿微囊藻中发现 2 种 MAAs: shinorine 和 porphyra-334。Sonker AS 等^[34]对印度几处历史遗迹中采集的 9 种蓝藻中 MAAs 进行了鉴定,发现其中含有 porphyra-334、shinorine、asterina-330。

2.1.3 绿藻纲

绿藻纲中的主要 MAAs 是 shinorine 和 porphyra-334。Karsten U 等^[19]对采自我国海南岛的 13 种绿藻进行了紫外吸收物质的初步鉴定,发现含量最多的是 porphyra-334,其次是 shinorine。Xiong FS 等^[35]对捷克 Trebon 地区淡水和陆地微藻中 MAAs 的种类进行了鉴定,发现其中主要的 MAAs 为 shinorine、porphyra-334、asterina-330。

2.1.4 甲藻纲

MAAs 普遍存在于甲藻纲中。Carreto JI 等^[21]对采自阿根廷 Buenos Aires 地区的亚历山大藻中的紫外吸收物质进行了鉴定,结果发现其中含有 MAAs,主要为 palythine、shinorine、porphyra-334、asterina-330。张英莲^[22]通过对我国华南沿海赤潮藻进行研究,发现塔玛亚历山大藻中 MAAs 主要包括 palythine、shinorine、porphyra-334。Vale P 等^[36]对从葡萄牙沿海采集的链状裸甲藻中的 MAAs 进行了鉴定,结果发现其中主要含有 shinorine 和 porphyra-334。

2.1.5 硅藻纲

在硅藻纲中,许多藻类也含有 MAAs,与甲藻纲所包含的 MAAs 种类相似。主要为 shinorine、porphyra-334。杜宁等^[37]在研究我国南极冰藻抗紫外辐射过程中,在 3 种硅藻中首次得到 4 种 MAAs。张英莲^[22]通过对我国华南沿海赤潮藻的研究,发现其中角毛藻和中肋骨条藻中含有少量 MAAs。

2.1.6 褐藻纲

褐藻不含或含少量的 MAAs,而且主要是 shinorine、porphyra-334。Karsten U^[19]对我国海南岛的褐藻中 MAAs 的种类进行了鉴定。结果发现,大多数褐藻中含有 porphyra-334、shinorine。Xiong FS 等^[35]对捷克 Trebon 地区淡水和陆地中的几种褐藻中 MAAs 的种类做了初步鉴定,发现含有 shinorine 和 porphyra-334。赵越剑等^[38]对我国汕头羊栖菜中的紫外吸收物质做了鉴定,证明其中含有少量 MAAs。

2.1.7 金藻纲和定鞭藻纲

金藻纲和定鞭藻纲中少数发现有 MAAs,主要为 shinorine、porphyra-334。张英莲等^[22]对我国华南

沿海地区常见球形棕囊藻中 MAAs 的种类做了鉴定,主要为 shinorine。Sun YH 等^[39]对挪威斯瓦尔巴群岛采集的球形棕囊藻中的紫外吸收物质进行了研究,发现其中含有多多种 MAAs。

2.2 藻类中类菌胞素氨基酸的含量

1998 年, Karsten U 等^[19]对美国、非洲、澳大利亚、日本地区红藻门中的 15 种小型红藻中的 MAAs 含量进行了测定,结果发现:所采集的红藻中 MAAs 的种类不尽相同,大部分红藻中含有几种相同的 MAAs: shinorine、porphyra-334、palythine、asterina-330、palythinol。所采集的小型红藻(干藻)中 MAAs 的总量不同,红藻 *Bostrychia radicans* 中 MAAs 总量最高,为 8.548 ± 0.732 mg/g; *Bostrychia pinnata* 中 MAAs 总量最低,为 0.766 ± 0.086 mg/g。红藻中各种 MAAs 的含量也有所差异, *Bostrychia calliptera* 中 palythine 含量最高,达到 3.822 ± 0.314 mg/g; *Caloglossa stipitata* 中 shinorine 含量最高,为 0.857 ± 0.112 mg/g; *Caloglossa leprieurii* 中 porphyra-334 含量最高,含量为 4.022 ± 0.497 mg/g。因此推测:在强紫外辐射条件下,热带海藻能够合成、积累 MAAs 的种类和含量差异可能与其生长环境、生理结构等因素有关。

Banaszak AT 等^[40]鉴定了宿主物种和共生藻中 MAAs 的种类,对其中 MAAs 的含量进行了测定,研究结果发现:在采集的 68 个物种中,共生藻和宿主物种中 MAAs 种类数大致相同。68 个宿主物种中均含有 mycosporine-glycine,而其中的 58 个宿主物种只含有 mycosporine-glycine。其中有 8 个宿主物种 mycosporine-glycine 含量占 MAAs 总量 97.35% ~ 99.68%, shinorine 含量占 MAAs 总量 0.18% ~ 1.80%, porphyra-334 占 MAAs 总量 0.18% ~ 0.85%。

在共生藻中共发现 4 种 MAAs,分别为 mycosporine-glycine、shinorine、porphyra-334 和 palythine。对宿主物种和共生藻中的 MAAs 的种类和含量对比分析, Banaszak 认为:部分共生藻中 MAAs 含量和宿主物种中的 MAAs 没有关联。

3 类菌胞素氨基酸的提取方法

目前多采用不同溶剂的提取方法提取海藻中的 MAAs。

MAAs 的溶解性和吸光度最大值(λ_{\max})属性会随萃取溶剂体系的极性和 pH 值的变化而变化。一

方面, MAAs 易溶于极性溶剂,如水、甲醇和乙醇中;微溶或不溶于非极性溶剂中,如己烷、苯和乙醚^[41,42]。另一方面,当 porphyra-334 溶解在 100%、70%、50% 和 30% 的乙醇中时, λ_{\max} 随乙醇浓度发生变化直至 336 nm,与以水为溶剂测定的 λ_{\max} 接近^[42]。Sekikawa I 等^[43]利用这些溶剂的特性,从 *Palmaria palmata* 的乙醇溶液中用乙醚沉淀出含有 usujirene 的粗提物。

水^[44,45]、乙醇、甲醇^[46]、乙腈^[4]等溶剂已成功用于红藻中 MAAs 的提取。然而,液相分析中,流动相最常用的是甲醇-水溶液^[46,47]。在大多数的研究中,从海藻中提取 MAAs 的方法如下:磨细/磨碎红藻样品并依次在要求的极性溶液中提取 1 ~ 2.5 h^[48-50]。

Carreto JI 等^[51]对于“在 45 °C 水浴条件下,使用 25% 甲醇水溶液持续提取大型海藻样品超过 2 h,此过程中 MAAs 的稳定性”提出了质疑,因为提取过程中 MAAs 有可能发生水解、转化或降解。他们提议用少量水水化一晚的冻干的大型海藻组织作为替代,并且使用甲醇-水溶液超声处理以提高 MAAs 的提取效率。

Volkman M 和 Gorbushina AA^[52]提出了一种广泛适用的提取 MAAs 的方法:使用 0.5% 甲醇和 0.2% 乙酸-水溶液(V/V), 4 °C 摇动萃取样品 12 h,然后离心并过滤(0.2 μm)。它不仅适用于红藻,而且适用于陆地和淡水生物。

Coba F. de la 等^[53]从三种微藻中提取 MAAs。以干海藻为原料,研磨粉碎,加入 20% 的甲醇,45 °C 提取 2 h,离心得上清液。上清液真空浓缩至干,加入甲醇溶解,过 0.20 μm 滤膜。最后,通过 HPLC-PDAD 联用法或液相色谱-质谱联用法进行分析以确定海藻中 MAAs 的化学信息。

4 类菌胞素氨基酸的分析方法

4.1 海藻中 MAAs 的定性分析

4.1.1 紫外光谱法

受化学结构中共轭双键数目、位置以及侧链上活性取代基团(C3 位置上连接不同的氨基酸、氨基醇和其他氨基功能团)的影响, MAAs 具有较强的紫外吸收能力。考虑到这些化合物在 310 ~ 362 nm 之间显示出显著的吸收峰,故采用紫外光谱法检测样品中 MAAs 的存在。324 nm 处的吸收峰强度被认为是 MAA 丰度的关键指标。一般用溶于 100% 甲

醇的粗海藻提取物进行 UV 光谱的测定,通过在 250 ~ 700 nm 的单或双光束光谱扫描,对样品中的 MAAs 进行定性分析。Dunlap WC 等^[54]利用紫外光谱法,对澳大利亚大堡礁地区造礁石珊瑚 *Acropora formosa* 中的紫外吸收物质进行分析,发现其中含有 MAAs: mycosporine-glycine、palythine、palythanol。Persaud A^[55]利用紫外光谱法对北美、新西兰等国家淡水中 11 个物种中紫外吸收物质进行了定性和定量分析。

4.1.2 红外光谱法

红外光谱可用于不同类型的天然产物的定性和定量研究。Sivalingam PM 等^[56]对 porphyra-334 进行红外光谱测定时,采用 KBr 压片法和 Hitachi215 型红外分光光度仪,通过主要吸收带在 3450(OH)、2920(C-C)、1600(COO-Na)、1540 cm⁻¹(amide) 和 1368 cm⁻¹处得以区分。Torres A 等^[57]从 *Aphanizomenon flosaquae* 中分离的 porphyra-334,采用 KBr 压片法,其红外吸收谱带分别出现在 3300、1600、1540、1380 cm⁻¹和 1080 cm⁻¹处。

因此,红外分析阐明的光谱特性对于确定 MAAs 十分有利。尽管对采用红外技术检测 MAAs 的存在没有较多的报道,但其简单性和有效性已被证实。

4.1.3 气相色谱质谱法(GC/MS)

与氨基酸类似,MAAs 为极性物质,因此,MAAs 需衍生化以便在 GC/MS 法的高温洗脱时不发生分解或分子结构变化^[58]。利用 GC/MS 测定 MAAs 含量时,在衍生化过程中由于 MAAs 的各种官能团可能会生成多种衍生物,给 MAAs 定量造成了相当大的困难^[58-60]。例如,氨基酸(-NH₂、-COOH、-OH 和 -SH)和 MAAs 的多种官能团的特性对甲硅烷基化试剂有不同的灵敏度,使主要衍生物的定量制备发生困难^[58-60]。Whitehead K 和 Hedges JI^[58]描述了 GC/MS 分析 MAAs 时遇到的问题。因此,MAAs 衍生物的定量制备对 GC/MS 来说仍然是一个挑战。

4.1.4 核磁共振波谱法(NMR)

NMR 光谱法是一种可取的识别 MAAs 结构的方法,因为它是一种非破坏性和选择性的技术,样品可以被多次扫描。核磁共振光谱的样品制备很简单,且耗时少,但它的灵敏度比 MS 要低得多,因此测定对样品的需求量较大^[61]。

为了获得在 NMR 中明确的化学位移,所需要测定的化合物的纯度是非常重要的,因此限制了该

技术在 MAAs 分析中的应用,导致大型红藻 MAAs 的 NMR 数据尚不完整。但到目前为止,已有研究人员用¹H 和¹³C NMR 得到一些 MAAs 的核磁数据,鉴定出一些 MAAs 化合物的化学结构。Sivalingam PM 等^[56]利用 NMR 鉴定出条斑紫菜中含有 shinorine 和 porphyra-334;Takano S 等^[62]利用 NMR 鉴定珊瑚 (*Zoanthid Palythoa tuberculosa*) 中含有 mycosporine-glycine 和 palythine;Takano S 等^[63]利用 NMR 鉴定甘紫菜中含有 porphyra-334 和 palythene;Sekikawa I 等^[43]利用 NMR 鉴定红藻 (*P. palmata*) 中 MAAs 时发现一种新结构的 MAAs: usujirene。Righi V 等^[64]首次利用高分辨 NMR 鉴定蓝绿藻中 3 种 MAAs: porphyra-334、shinorine 和 threonine。¹H 和¹³C NMR 在鉴定和确认新 MAAs 结构方面是非常有效的^[65],其局限性也可以通过 LC/NMR 和 LC/MS/NMR 的方法克服。

4.2 类菌胞素氨基酸的定量分析

4.2.1 高效液相色谱法

采用高效液相色谱仪-光电二极管阵列检测器 (HPLC-PDAD) 作为检测手段,是对红藻提取物中 MAAs 进行定量分析最常用的方法。在样品制备方面,HPLC 分析之前,粗海藻提取物需离心或过滤以去除杂质^[66]。也可采用 Sephadex LH-20/G10 柱^[42]、超滤技术^[21]或固相萃取柱^[67]等方法进行纯化。可采用正相^[68]、反相 (RP)^[69,70]或氨基改性硅胶柱^[7]对 MAAs 进行定量分析。在 MAAs 液相色谱条件优化时,大多采用含 0.1% 乙酸的甲醇-水流动相体系^[68,69]。甲醇-水流动相体系适用于从大型海藻样品中分离较大极性的 MAAs^[71]。

可通过 HPLC-PDAD 法的 λ_{max} 、保留时间以及现有文献已知值来确定 MAAs。然而,当通过 HPLC-PDAD 法确定化合物时,一些 MAAs 有相似的参数^[72]。此外,mycosporine-glycine-valine 的 HPLC-PDAD 分析表明其与 palythenic 酸具有相似特性 (λ_{max} 差值为 2 nm),这使得对其结构的鉴定十分困难^[73]。目前,因缺乏 MAAs 标准品,通常采用 HPLC-PDAD 法鉴定化学结构已知的 MAAs。

4.2.2 液相色谱-质谱联用法(LC-MS)

由于采用 HPLC-PDAD 联用法识别 MAAs 具有局限性,研究人员最近使用 HPLC 联合质谱法 (LC-MS) 来研究 MAAs^[74]。例如,通过 LC-MS 鉴定珊瑚 *Pocillopora capitata* 所含有 MAAs 的种类^[75]。使用 LC-MS 时,离子源轰击 MAAs 而产生的分子碎片的

特征质荷比 m/z 是鉴定 MAAs 的关键^[66]。

目前, MS 常用离子源, 如电喷雾电离离子源 (ESI)^[66]、大气压化学电离离子源 (API-ES)^[76] 和大气压光电离子源 (APPI) 均可用来检测和鉴别 MAAs。这些离子源中, 电喷雾电离离子源已被证明是较好的选择, 这可能是由于该仪器的使用较为便捷。目前, 研究人员已使用多种质谱仪器来研究 MAAs^[52,77-79]。

5 类菌胞素氨基酸的生物活性

5.1 抗氧化作用

MAAs 能够清除氧自由基, 因此具有抗氧化作用^[67]。MAAs 在大型红藻中起着内源性抗氧化活性作用。Dunlap WC 和 Yamamoto Y^[14] 提出了此假设。实验证实 mycosporine-glycine 在一个有亲水性稳定自由基 2,2'-偶氮双(2-脒基丙烷)二盐酸盐 (AAPH) 的反应中被消耗, 而 MAAs 如 shinorine、porphyra-334、palythine、asterina-330 和 palythanol 在 *Palythoa tuberculosa* 提取物中始终保持在初始水平。推测 mycosporine-glycine 对氧化有较大的敏感性, 由此作为一种抗氧化剂, 是通过给予电子以稳定自由基过程中的一种还原剂, 其抗氧化活性与其较低的氧化还原电位有关。Coba F. de la 等^[53] 研究了三种红藻中 MAAs 的抗氧化活性。在清除阳离子自由基 ABTS⁺ 时, mycosporine-glycine 清除 ABTS⁺ 能力最强, 具有最高的活性; asterina-330 有较弱的清除 ABTS⁺ 的能力; porphyra-334 有更弱清除 ABTS⁺ 的能力, 具有更低的活性。推测影响 MAAs 抗氧化活性的因素可能包括这些化合物的相对酸性, 即在实验条件下的解离程度。

Nakayama R 等^[80] 推测, usujirene 具有强的抗氧化活性, 可能与环己烯酮环在 C4、C6 的氢相关, 或者与其残基的亚甲基 (C9) 的氢相关, 该残基由顺式不饱和链上串联在碳环双键与 C1 位置双键键合的氮的共轭作用保持稳定。同样, shinorine 对 AAPH 衍生的过氧化自由基脂质过氧化以及 O₂⁻ 的弱抗氧化活性与来自环己烯酮环在 C4、C6 的氢相关联, 或者与其残基的亚甲基 (C9) 的氢相关联, 该残基存在一些由碳环双键结构提供的共轭稳定。Suh HJ 等^[81] 研究表明: mycosporine-glycine 不仅在曙红 Y 型介导的红细胞溶血中抑制单线态氧介导 II 型光敏反应, 同时也在亚甲蓝介导的大豆胚轴微粒体的脂质过氧化中抑制单线态氧介导的 II 型光敏反应。

研究指出, mycosporine-glycine 的单线态氧猝灭效应与环己烯酮发色团中的羰基和一些通过碳环双键共振稳定的结构相关。另一方面, Yuan YV 等^[82] 推测: mycosporine-glycine 的脂质过氧化的抑制作用可能与 MAAs 基本结构的 C4 或 C6 上提供的氢相关。mycosporine-glycine 对脂质过氧化相对较弱的抑制作用和 β 胡萝卜素的清除自由基效果相反, 可能证明极性悖论, 即极性化合物在水相中, 特别是在液滴界面被稀释, 而在乳液中表现出弱抗氧化活性。Rastogi RP 等^[83] 研究了蓝藻 (*Nostoc* sp.) 中 MAAs 的抗氧化能力, 发现随着 MAAs 浓度的增加, 对 DP-PH 的抑制率逐渐增大。Coba F. de la 等^[53] 认为 mycosporine-glycine 的 O₂⁻ 无反应性可能与碱性条件下测定有关。

5.2 紫外光防护作用

海藻及其共生体中 MAAs 浓度与它们在自然界接受的总辐射强度呈正相关, 表明它们可能具有紫外光防护功能^[8]。目前, 很多研究发现, 在多种海藻中存在 MAAs, 它在海藻中主要起着紫外防护和生长调控的作用。许多微藻在紫外辐射条件下, 藻体内会合成不同种类和含量的 MAAs, 充分说明了紫外辐射可以诱导某些藻类 MAAs 的合成。Hoyer K 和 Karsten U^[84] 用不同的诱导条件对南极一种微藻中抗紫外物质进行了诱导, 证明了 MAAs 的产生、合成、积累的过程是一种非常灵活并且特殊的机制, 并推测此过程与机体自身的基因表达及环境胁迫有关。Oyamada C 等^[85] 证明 MAAs 对紫外诱导的成人纤维细胞死亡有保护效果。mycosporine-glycine 的功效在于其 $\lambda_{\max} = 310$ nm 处的功能, 接近目前研究的 302 nm 的紫外源峰值输出, 吸收紫外线效率最高, 具有最强的活性, 因此, 反映 MAAs 可作为抗氧化剂清除单线态氧及含水稳定自由基。而 porphyra-334 和 shinorine 在 UV 防护方面活性的差异目前尚不清楚, 因为它们具有相同的最大紫外波长 (334 nm) 和相近的摩尔吸收系数。Oyamada C 等证明 MAAs 对正常成人的纤维细胞没有细胞毒性, 并且能够诱导细胞 (吸收 UV) 增殖。因此, Oyamada 认为: 在促进细胞增殖方面, mycosporine-glycine 和 shinorine 活性接近, porphyra-334 活性最低。Becker K 等^[86] 研究证明 shinorine 和 porphyra-334 可以影响人体细胞内受体激活蛋白 (NF- κ B) 的活性。NF- κ B 活性随 shinorine 浓度的增加而增大, 且显示出剂量依赖。

5.3 抗肿瘤

MAAs 能够抑制癌细胞的增殖,具有抗肿瘤的作用。Torres A 等^[87]在一项研究工作中,用一种新型的从地衣子囊菌中分离得到的类菌胞素氨基酸。证明了 MAAs 具有阻碍经紫外照射的细胞中嘧啶二聚体形成的能力。因此,推测 MAAs 保护 DNA,从而保护细胞免受肿瘤启动的威胁。Misonou T 等^[44]发现 *P. yezoensis* 的提取物中包含 palythine、shinorine 和 porphyra-334,活性研究验证了以上结论。

Athukorala Y 等^[88]证明 MAAs 能够抑制癌细胞 Hela 和 U-937 的增殖。几种红藻提取物抑制 Hela 细胞增殖的效果对比结果为:野生红藻 *Mastocarpus stellatus* > 低紫外辐射野生红藻 *Chondrus crispus* > 高紫外辐射野生红藻 *Chondrus crispus* > 野生红藻 *Palmaria palmata* > 人工养殖红藻 *Chondrus crispus*。同样,几种红藻提取物抑制 U-937 细胞增殖的效果由强到弱为:高紫外辐射野生 *C. crispus* ≥ 低紫外辐射野生 *C. crispus* ≥ 野生 *M. stellatus* ≥ 人工养殖 *C. crispus* > 野生 *P. palmata*。几种提取物对 Hela 细胞的 EC₅₀ 分别为:野生 *P. palmata* (1.83 mg/mL)、低紫外辐射野生 *C. crispus* (0.457 mg/mL)、高紫外辐射野生 *C. crispus* (1.06 mg/mL)、人工养殖 *C. crispus* (1.73 mg/mL)、野生 *M. stellatus* (0.747 mg/mL)。几种提取物对 U-937 细胞的 EC₅₀ 分别为:野生 *P. palmata* (2.51 mg/mL),低紫外辐射野生 *C. crispus* (0.772 mg/mL),高紫外辐射野生 *C. crispus* (0.344 mg/mL),人工养殖 *C. crispus* (1.99 mg/mL),野生 *M. stellatus* (1.15 mg/mL)。

5.4 调节胚胎发育、生物生长、调节渗透

MAAs 对胚胎和幼虫发育具有保护作用^[89]。如 MAAs 对腰鞭毛虫和海胆胚胎具有保护作用,但其保护的准确目标尚未完全清楚。MAAs 与一些生物生长有关^[90,91],但其调节机制尚不清楚。蓝藻中含有多种活性成分^[92],其藻体内的 MAAs 浓度较高,并且有两性或偏酸的特性,因此认为 MAAs 在蓝藻细胞中具有调节渗透的功能^[93]。

6 类菌胞素氨基酸在体内的吸收和分布

目前,已有研究人员考察了 MAAs 在生物体内的吸收和分布。Mason DS 等^[23]通过小鼠体内喂养实验,以确定 MAAs 的摄取、吸收、组织沉淀或潜在的生物活性。研究发现:以干燥的红藻 *Mastocarpus*

stellatus (含有 shinorine) 喂养 7 ~ 8 周左右雌性 SKH-1 无毛小鼠时,在任何阶段,在小鼠的眼睛、背部皮肤和肝组织中不存在膳食 MAAs,但是喂养 37 d 的白鼠,MAAs 存在于近端、中间和远端的小肠和大肠组织,且在粪便中也发现有 MAAs。通过喂养实验,证明日本青鳉可以从它们的膳食中摄取 MAAs。研究发现:喂养含干燥的红藻 (*Mastocarpus stellatus*) 的饲料 38、84、150 d 后,实验组中青鳉眼中 palythine 和 asterina-330 总含量分别提高 11%、10%、15%,尾鳍中 palythine 和 asterina-330 总含量提高 0.7%、1.1%、0.5%。Ku SH 等^[94]认为白化无毛的 SKH-1 小鼠是评估对致癌物诱导或紫外线诱导的皮肤癌的动物模型,这种啮齿动物具有独特的区域分布和胰内分泌细胞,这些细胞可影响消化道的生理和吸收功能。因此,目前还不清楚哺乳动物是否吸收膳食 MAAs。

7 类菌胞素氨基酸在化妆品中的应用

部分 MAAs 已经应用于防晒霜中。Schmid BD 等^[95]对 MAAs 在防晒霜(脂质体面霜,命名为 Helioguard 365)中稳定性进行了研究。在不同温度 4 °C、室温、37 °C 下,一个月和三个月后观察 MAAs 的含量变化。研究发现:一个月后,4 °C、室温、37 °C 条件下,MAAs 含量没有降低;三个月后,4 °C、室温条件下,MAAs 含量几乎没有变化;37 °C 条件下,MAAs 含量降低了 20%。同时,SchmidBD 等证明 Helioguard 365 中的 MAAs 可以提高细胞存活率,保护细胞免受紫外引起的 DNA 损伤。SchmidBD 用含 MAAs 的 Helioguard 365 来处理 HaCaT 细胞时发现:使用含 MAAs 防晒霜可提高细胞的存活率。另外一项实验,Schmid 用含 MAAs 的 Helioguard 365 来处理人体纤维细胞时发现:UV 辐射条件下,使用含 MAAs 防晒霜时,可减少受 UV 辐射引起 DNA 损伤细胞的数量。

8 结语

近半个世纪以来,随着人类活动的加剧,对大气臭氧层的破坏日益严重,到达地球表面的紫外线辐射愈发强烈。过量接受紫外线辐射易引起皮肤衰老和损伤,对长期户外作业人群的危害更大,可能引发皮肤癌。研究类菌胞素氨基酸抗紫外线照射所致皮肤光损伤的防护作用及其机制具有重要的理论和实践意义。类菌胞素氨基酸易溶于水,目前,高纯度的

类菌胞素氨基酸产品很少,使其广泛应用受到限制。开发高效便捷的分离、纯化方法,从养殖红藻资源中提取获得高纯度的类菌胞素氨基酸产品成为亟需突破的技术瓶颈。另外,随着类菌胞素氨基酸产品的规模化制备,MAAs 对水生生物,尤其是人工养殖水产品的紫外线防护作用的研究的深入,将为水产养殖提供增产、增收的新途径。

参考文献

- Liu ZW (刘正文), *et al.* UV protective compounds mycosporine-like amino acids (MAAs) and bloom forming mechanism in *Microcystis aeruginosa*. *J Lake Sci* (湖泊科学), 2003, 15:359-361.
- Xu ZH (许志恒), *et al.* Species identification and optimization of extraction conditions of mycosporine-like amino acids in *Porphyra yezoensis*. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2011, 32:187-189.
- Rastogi RP, *et al.* Biotechnological and industrial significance of cyanobacterial secondary metabolites. *Biotechnol Adv*, 2009, 27:521-539.
- Llewellyn CA, *et al.* Distribution and abundance of MAAs in 33 species of microalgae across 13 classes. *Mar Drugs*, 2010, 8:1273-1291.
- Rozema J, *et al.* The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems-an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2002, 66:2-12.
- Shick JM, *et al.* Mycosporine-like amino acids and related gadusols: biosynthesis, accumulation, and UV-protective functions in aquatic organisms. *Annual Rev Physiol*, 2002, 64:223-262.
- Favre-Bonvin J, *et al.* Biosynthesis of mycosporines: mycosporine glutaminol in MAAs *Trichothecium roseum*. *Phytochem*, 1987, 26:2509-2514.
- Rastogi RP, *et al.* Photoprotective compounds from marine organisms. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2010, 37:537-558.
- Agostino PM, *et al.* Comparative profiling and discovery of novel glycosylated mycosporine-like amino acids in two strains of the cyanobacterium *Scytonema cf. crispum*. *Appl Environ Microbiol*, 2016, 82:5951-5957.
- Hartmann A, *et al.* Prasiolin, a new UV-sunscreen compound in the terrestrial green macroalga *Prasiola calophylla* (Carmichael ex Greville) Kützing (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Planta Med*, 2016, 243:161-169.
- Shukla V, *et al.* Characterization of the diversity of mycosporine-like amino acids in lichens from high altitude region of Himalaya. *Amino Acids*, 2016, 48:129-136.
- Zhang ZH, *et al.* Influence of pH and temperature on the ultraviolet-absorbing properties of porphyra-334. *Fisheries Sci*, 2005, 71:1382-1384.
- He QM (贺庆梅). Study on preparation and character of UV-absorbing compound in seaweeds. Qingdao: Ocean University of China (中国海洋大学), MSc. 2008.
- Dunlap WC, *et al.* Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. *Comp Biochem Physiol*, 1995, 11:105-114.
- Sinha RP, *et al.* Mycosporine-like amino acids in the marine red alga *Gracilaria cornea* — effects of UV and heat. *Environ Exp Bot*, 2000, 43:33-43.
- Conde FR, *et al.* The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2000, 56:139-144.
- Conde FR, *et al.* The deactivation pathways of the excited-states of the mycosporine-like amino acids shinorine and porphyra-334 in aqueous solution. *Photochem Photobiol Sci*, 2004, 3:960-967.
- Xu ZH (许志恒). Extraction and characterization of anti-ultraviolet substances from *Porphyra yezoensis*. Qingdao: Ocean University of China (中国海洋大学), MSc. 2010.
- Karsten U, *et al.* A survey of the distribution of UV-absorbing substances in tropical macroalgae. *Phycol Res*, 1998, 46:271-279.
- Huovinen P, *et al.* Ultraviolet-absorbing mycosporine-like amino acids in red macroalgae from Chile. *Bot Mar*, 2004, 47:21-29.
- Carreto JJ, *et al.* Occurrence of mycosporine like amino acids in the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavatum*, UV photoprotective compounds, *J Plankton Res*, 1990, 121:909-921.
- Zhang YL (张英莲). UV-B induced changes of growth and MAAs in HAB causative algae from South China Sea. Guangzhou: South China Normal University (华南师范大学), MSc. 2007.
- Mason DS, *et al.* Ultraviolet radiation absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) are acquired from their diet by medaka fish (*Oryzias latipes*) but not by SKH-1 hairless mice. *Comp Biochem Physiol*, 1998, 120:587-598.
- Moisan TA, *et al.* UV-absorption by mycosporine-like amino acids in *Phaeocystis antarctica* Karsten induced by photosynthetically available radiation. *Mar Biol*, 2001, 138:217-227.
- Carroll AK, *et al.* Dietary accumulation of mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocent-*

- trotusdroebachiensis*). *Mar Biol*, 1996, 124:561-569.
- 26 Adams NL, *et al.* Mycosporine-like amino acids provide protection against ultraviolet radiation in eggs of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Photochem Photobiol*, 1996, 64:149-158.
- 27 Adams NL, *et al.* Selective accumulation of mycosporine-like amino acids in ovaries of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* is not affected by ultraviolet radiation. *Mar Biol*, 2001, 138:281-294.
- 28 Jin NN (金宁宁), *et al.* Study on the isolation, purification and composition analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in *Gracilaria changii*. *J Fisheries chin* (水产学报), 2011, 35:1829-1837.
- 29 Chen XL (陈小兰), *et al.* UV-protective metabolites in aquatic organisms-mycosporine-like amino acids. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2006, 23:78-86.
- 30 Sinha RP, *et al.* Ultraviolet-absorbing/screening substances in cyanobacteria phytoplankton and macroalgae. *J Photochem Photobiol B Biol*, 1998, 47:83-94.
- 31 Rastogi RP, *et al.* Ultraviolet radiation and cyanobacteria. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2014, 141:154-169.
- 32 Sinha RP, *et al.* Effects of ultraviolet-B radiation in three rice field cyanobacteria. *J Plant Physiol*, 1998:763-767.
- 33 Sinha RP, *et al.* Induction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in cyanobacteria by solar ultraviolet-B radiation. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2001, 60:129-135.
- 34 Sonker AS, *et al.* Mycosporine-like amino acids from biological Integuments of historical monuments. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 2016, 5:30-41.
- 35 Xiong FS, *et al.* The occurrence of UV-B absorbing mycosporine-like amino acids in freshwater and terrestrial microalgae (Chlorophyta). *Aquat Bot*, 1999, 63:37-49.
- 36 Vale P. Can Mycosporine-like amino acids act as multifunctional compounds in *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae)? *Photochem Photobiol*, 2016, 92:264-275.
- 37 Du N (杜宁), *et al.* Preliminary study on the antiultraviolet irradiation active substances of mycosporine-like amino acids from four kinds of Antarctic ice microalgae. *Chin J mar drugs* (中国海洋药物), 2007, 26:5-10.
- 38 ZhaoYJ (赵越剑). Ecophysiological responses of *Hizikia fusiformis* to solar UV radiation. Shantou: Shan Tou University (汕头大学), MSc. 2009.
- 39 Sun YH, *et al.* Strategy of photo-protection in phytoplankton assemblages in the Kongsfjorden, Svalbard, Arctic. *Chin J Oceanol Limnol*, 2016, 34:1-12.
- 40 Banaszak AT, *et al.* The distribution of mycosporine-like amino acids (MAAs) and the phylogenetic identity of symbiotic dinoflagellates in cnidarian hosts from the Mexican Caribbean. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2006, 337:131-146.
- 41 Gröniger A, *et al.* Stability of mycosporine-like amino acids. *Photochem Photobiol*, 2000, 4:247-252.
- 42 Zhang ZH, *et al.* The isolation of porphy-334 from marine algae and its UV-absorption behavior. *chin J Oceanol Limnol*, 2005, 23:400-405.
- 43 Sekikawa I, *et al.* Isolation and structure of a 357 nm UV-absorbing substance, Usujirene, from red alga *Palmaria palmata* (L.) O. Kuntze. *Jap J Phycol*, 1986, 34:185-188.
- 44 Misonou T, *et al.* UV-absorbing substance in the red alga *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) block thymine photodimer production. *Mar Biotechnol*, 2003, 5:194-200.
- 45 Whitehead K, *et al.* Photodegradation and photosensitization of mycosporine-like amino acids. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2005, 80:115-121.
- 46 Dunlap WC, *et al.* Biochemical photoadaptions in vision: UV-absorbing pigments in fish-eye tissues. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 1989, 93:601-607.
- 47 Helbling EW, *et al.* Dynamics of potentially protective compounds in rhodophytespecies from Patagonia (Argentina) exposed to solar radiation. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2004, 75:63-71.
- 48 Huovinen P, *et al.* Ultraviolet-absorbing mycosporine-like amino acids in red macroalgae from Chile. *Bot Mar*, 2004, 47:21-29.
- 49 Gröniger A, *et al.* Influence of UV radiation and visible light on *Porphyra umbilicalis*: photoinhibition and MAA concentration. *J Appl Phycol*, 1999, 11:437-445.
- 50 Lee TM, *et al.* Implications of mycosporine-like amino acid and antioxidant defenses in UV-B radiation tolerance for the algae species *Pterocladia capillacea* and *Gelidium amansii*. *Mar Environ Res*, 2009, 67:8-16.
- 51 Carreto II, *et al.* A high-resolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. *Mar Biol*, 2005, 146:237-252.
- 52 Volkman M, *et al.* A broadly applicable method for extraction and characterization of mycosporines and mycosporine-like amino acids of terrestrial, marine and freshwater origin. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 255:286-295.
- 53 Coba F. de la, *et al.* Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *J Appl Phycol*, 2009, 21:161-169.
- 54 Dunlap WC, *et al.* Identification and quantitation of near-UV absorbing compounds (S-320) in a hermatypic scleractinian. *Coral Reefs*, 1986, 5:155-159.

- 55 Persaud A, *et al.* Photoprotective compounds in weakly and strongly pigmented copepods and co-occurring cladocerans. *Freshwater Biol*, 2007, 52:2121-2133.
- 56 Sivalingam PM, *et al.* Isolation and physico-chemical properties of a substance 334 from the red alga *Porphyra yezoensis* Ueda. *Bot Mar*, 1976, 19:1-7.
- 57 Torres A, *et al.* Porphyra-334, a potential natural source for UVA protective sunscreens. *Photochem Photobiol Sci*, 2006, 5:432-435.
- 58 Whitehead K, *et al.* Electrospray ionization tandem mass spectrometric and electron impact mass spectro metric characterization of mycosporine-like amino acids. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2003, 17:2133-2138.
- 59 Molnár-Perl I, *et al.* GC-MS of amino acids as their trimethylsilyl/*t*-butyldimethylsilyl derivatives: in model solutions III. *Chromatogr Suppl*, 2000, 51:228-236.
- 60 Whitehead K, *et al.* Analysis of mycosporine-like amino acids in plankton by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Mar Chem*, 2002, 80:27-39.
- 61 Silva Elipe MV. Advantages and disadvantages of nuclear magnetic resonance spectroscopy as a hyphenated technique. *Ana Chimica Acta*, 2003, 497:1-25.
- 62 Takano S, *et al.* Isolation and structure of a new amino acid, palythine, from the zoanthid *Palythoa bercurlosa*. *Tetrahedron Lett*, 1978, 19:2299-2300.
- 63 Takano S, *et al.* Isolation and structure of a 334 nm UV-absorbing substance, porphyra-334 from the red alga *Porphyra tenera* Kjellman. *Chem Lett*, 1979, 26:419-420.
- 64 Righi V, *et al.* Mycosporine-like amino acids and other phytochemicals directly detected by high-resolution NMR on Klamath (*Aphanizomenon flosaquae*) blue-green algae. *J Agric Food Chem*, 2016, 64:6708-6715.
- 65 Wu W, *et al.* Two new UV-absorbing compounds from *Stylophorapi sulphate* esters of mycosporine-like amino acids. *Tetrahedron Lett*, 1997, 3:2525-2526.
- 66 Yuan YV, *et al.* Mycosporine-like amino acid composition of the edible red alga, *Palmaria palmata* (dulse) harvested from the west and east coasts of Grand Manan Island, New Brunswick. *Food Chem*, 2009, 112:321-328.
- 67 Obermüller B, *et al.* Response of oxidative stress parameters and suncreening compounds in Arctic amphipods during experimental exposure to maximal natural UV-B radiation. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2005, 323:100-117.
- 68 Karentz D, *et al.* Survey of mycosporine-like amino acid compounds in Antarctic marine organisms: potential protection from ultraviolet exposure. *Mar Biol*, 1991, 108:157-166.
- 69 Stochaj WR, *et al.* Two new UV-absorbing mycosporine-like amino acids from the sea anemone *Anthopleura elegantissima* and the effects of zooxanthellae and spectral irradiance on chemical composition and content. *Mar Biol*, 1994, 118:149-156.
- 70 Przeslawski R, *et al.* A quantitative survey of mycosporine-like amino acids (MAAs) in intertidal egg masses from temperature rocky shores. *J Chem ecol*, 2005, 31:2417-2438.
- 71 Nakamura H, *et al.* Separation of mycosporine-like amino acids in marine organisms using reverse phase high performance chromatography. *J Chromatogr*, 1982, 250:113-118.
- 72 Wu W, *et al.* Two new UV-absorbing compounds from *Stylophorapi sulphate* esters of mycosporine-like amino acids. *Tetrahedron Lett*, 1997, 3:2525-2526.
- 73 Whitehead K, *et al.* Mycosporine-like amino acids (MAAs) in phytoplankton, a herbivorous pteropod (*Limacina helicina*), and its pteropod predator (*Clione antarctica*) in McMurdo Bay, Antarctica. *Mar Biol*, 2001, 139:1013-1019.
- 74 Girod M, *et al.* Structural characterization of a poly(methacrylic acid)/poly(methylmethacrylate) copolymer by activated electron photo-detachment dissociation. *Int J Mass Spectrom*, 2013, 333:27-33.
- 75 Carignan MO, *et al.* Palythine-threonine, a major novel mycosporine-like amino acid (MAA) isolated from the hermatypic coral *Pocillopora capitata*. *J Photochem Photobiol B Biol*, 2009, 94:191-200.
- 76 Whitehead K, *et al.* Analysis of mycosporine-like amino acids in plankton by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Mar Chem*, 2002, 80:27-39.
- 77 Whitehead K, *et al.* Mycosporine-like amino acids (MAAs) in phytoplankton, a herbivorous pteropod (*Limacina helicina*), and its pteropod predator (*Clione antarctica*) in McMurdo Bay, Antarctica. *Mar Biol*, 2001, 139:1013-1019.
- 78 Ingalls AE, *et al.* Tinted windows: The presence of the UV absorbing compounds called mycosporine-like amino acids embedded in the frustules of marine diatoms. *Geochim Cosmochim Acta*, 2010, 74:104-115.
- 79 Cardozo KH, *et al.* Fragmentation of mycosporine-like amino acids by hydrogen/deuterium exchange and electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2006, 20:253-258.
- 80 Nakayama R, *et al.* Antioxidant effect of the constituents of susabinori (*Porphyra yezoensis*). *J Am Oil Chem Soc*, 1999, 76:649-653.
- 81 Suh HJ, *et al.* Mycosporine-glycine protects biological systems against photodynamic damage by quenching singlet oxygen with a high efficiency. *Photochem Photobiol*, 2003, 78:109-113.

- 82 Yuan YV, *et al.* Antioxidant activity of dulse (*Palmaria palmata*) extract evaluated *in vitro*. *Food Chem*, 2005, 91:485-494.
- 83 Rastogi RP, *et al.* Characterization and antioxidant functions of mycosporine-like amino acids in the cyanobacterium *Nostoc* sp. R76DM. *Algal Res*, 2016, 16:110-118.
- 84 Hoyer K, *et al.* Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. *Mar Biol*, 2002, 141:619-627.
- 85 Oyamada C, *et al.* Mycosporine-like amino acids extracted from scallop (*Patinopecten yessoensis*) ovaries; UV protection and growth stimulation activities on human cells. *Mar Biotechnol*, 2007, 10:141-150.
- 86 Becker K, *et al.* Immunomodulatory effects of the mycosporine-like amino acids shinorine and porphyra-334. *Mar Drugs*, 2016, 14:1-12.
- 87 Torres A, *et al.* A new UV-B absorbing mycosporine with photo protective activity from the lichenized ascomycete *Collema cristatum*. *Eur J Biochem*, 2004, 271:780-784.
- 88 Athukorala Y, *et al.* Antiproliferative and antioxidant activities and mycosporine-like amino acid profiles of wild-harvested and cultivated edible Canadian marine red macroalgae. *Molecules*, 2016, 21:1-17.
- 89 Neale PJ, *et al.* Ultraviolet sunscreens in *Gymnodinium sanguineum* (Dinophyceae): mycosporine-like amino acids protect against inhibition of photosynthesis. *J Phycol*, 1998, 34:928-938.
- 90 Karsten U, *et al.* The effect of ultraviolet radiation on photosynthesis and ultraviolet-absorbing substances in the endemic Arctic macroalgae *Devaleraea ramentacea* (Rhodophyta). *Physiol Plantarum*, 1999, 105:58-66.
- 91 Hoyer K, *et al.* Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. *Mar Biol*, 2002, 141:619-627.
- 92 Shibata K. Pigments and a UV-absorbing substance in corals and a blue-green algae living in the Great Barrier Reef. *Plant Cell Physiol*, 1969, 10:325-335.
- 93 Oren A. Mycosporine-like amino acids as osmotic solutes in a community of halophilic cyanobacteria. *Geomicrobiol J*, 1997, 14:231-240.
- 94 Ku SK, *et al.* An immunohistochemical study of pancreatic endocrine cells in SKH-1 hairless mice. *Eur J Histochem*, 2002, 46:229-265.
- 95 Schmid BD, *et al.* Mycosporine-like amino acids from red algae protect against premature skin-aging. *Eur Cosmetics*, 2006, 9:1-4.