

致命鹅膏化学成分的研究

池毓琅, 闵伶俐, 董四君*

中国科学院城市环境研究所, 厦门 361021

摘要:从致命鹅膏(*Amanita exitialis*)子实体中分离得到了8个化合物。通过光谱和化学方法,其结构分别鉴定为:对羟基苯甲酸(1)、腺嘌呤核苷(2)、丁二酸二甲酯(3)、鸟嘌呤核苷(4)、尿嘧啶核苷(5)、(2*S*,3*S*,4*R*,2'*R*)-2-(2'-羟基二十四碳酰氨基)十八碳-1,3,4-三醇(6)、苯丙氨酸(7)、 β -咔啉(8)。前七个化合物均为首次从致命鹅膏中分离得到。

关键词:致命鹅膏;鹅膏菌属;核苷

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2015.S.006

Chemical Constituents from *Amanita Exitialis*

CHI Yu-lang, MIN Ling-li, DONG Si-jun*

Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, China

Abstract: Eight compounds were isolated from *Amanita exitialis*. By spectroscopic and chemical methods, they were identified as p-hydroxybenzoic acid (1), adenosine (2), methylsuccinate (3), guanine (4), uridine (5), (2*S*,3*S*,4*R*,2'*R*)-2-(2'-hydroxytetracosanoylamino)-octadecane-1,3,4-triol (6), phenylalanine (7), β -carboline (8). The first seven compounds were isolated from *Amanita exitialis* for the first time.

Key words: *Amanita exitialis*; *Amanita*; nucleoside

致命鹅膏(*Amanita exitialis*)是2001年由李泰辉等报道的一个新种^[1],是一种剧毒蘑菇,也叫“致命白毒伞”,在广州的华南植物园、白云山、天麓湖等地均有分布,近年来已经导致数十人中毒身亡。在植物学分类上属于担子菌亚门,无隔担子菌纲,伞菌目,鹅膏科,鹅膏菌属。菌体幼时卵形,后菌盖展开成伞状,呈纯白色。菌盖直径为4~7 cm,菌柄长7~9 cm,粗0.5~1.0 cm。常在鬲蒴树(*Castanopsis fissa*)的树荫下群生或散生,大量生长于春季温暖多雨的三、四月,五至七月也有少量出现。据文献报道其毒素主要为毒伞肽和毒肽类^[2]。目前对致命鹅膏化学成分研究的报道甚少,主要报道的是采用高效液相色谱(HPLC)的方法对其肽类毒素进行分析。我们对致命鹅膏的化学成分进行了系统分离和结构鉴定。我们之前报道了致命鹅膏化学成分研究的相关研究工作,主要包括2-N-(1-甲氧羰基乙基)鸟苷^[3]和一个环九肽化合物^[4]。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

致命鹅膏(*Amanita exitialis*)采摘于华南植物园。硅胶为青岛海洋化工厂生产,反相柱层析为十八烷基硅醚(RP-18),柱层析用凝胶为Sephadex LH-20,薄层层析板是烟台黄务硅胶开发试验厂生产。

1.2 仪器

Bruker DRX-400型超导核磁共振仪,电喷雾质谱(ESIMS)用MDS SCIEX API 2000 LC/MS/MS, DDB-300多通道电子蠕动泵;浙江象山石浦海天电子仪器厂;Eyela N-1旋转蒸发器,Tokyo Rikakai Co. Ltd;Eyela Aspirator A-3S循环水真空泵;Tokyo Rikakai Co. Ltd;电热恒温水浴锅:上海跃进医疗器材厂;高效液相仪:RID-10A,日本Shimadzu公司。

2 提取与分离

采用乙醇提取法,将致命鹅膏(13.8 kg)子实体用95%的工业乙醇连续提取3次。然后分别用石油醚,乙酸乙酯和正丁醇分别萃取3次。旋转蒸发

仪浓缩后得到石油醚部分(6.12 g),乙酸乙酯部分(9.45 g)和正丁醇部分(16.43 g)。

将乙酸乙酯部分(6.12 g)上硅胶柱(100~200目),用三氯甲烷-甲醇(100:0~60:40)梯度洗脱,每份收集120 mL洗脱液,共收集122个流份。根据薄层层析(TLC)检测结果合并相近的流份,共合并为E₁-E₉9个部分。E₁进行硅胶柱层析,氯仿/甲醇=9:1洗脱,将17~36馏分合并上凝胶柱进行分离纯化,得到化合物1。将E₂上凝胶柱,用甲醇洗脱,得到73个流份,其中流份14-18在试管壁上出现了结晶,转移出母液,洗净结晶后得到化合物2。将E₆部分用小正相硅胶柱进行分离,得到化合物3。将E₈和E₉两部分合并后经硅胶柱层析(100~200目),氯仿-甲醇(98:2~70:30)梯度依次洗脱,得到76个馏分,将20~36馏分合并后用凝胶柱进行分离,得到化合物4。

将正丁醇提取部分(16.43 g)首先过大孔吸附树脂层析,将过大孔吸附树脂后的正丁醇部分(8.0 g)上硅胶柱层析,用三氯甲烷-甲醇(90:10~65:35)梯度洗脱,每份收集250 mL洗脱液,共收集136个馏分。根据薄层层析(TLC)检测结果合并相近的流份共合并为12个部分。将E₂部分上反相柱分离,甲醇/水=85:15浓度洗脱,共收集27个馏分,其中馏分5~12合并后经过凝胶柱层析得到化合物5。将E₅部分上凝胶柱得到化合物6。E₆部分放置后出现了沉淀,对该部分进行了洗沉淀,得到化合物7。将E₉部分上凝胶柱,共收集36个馏分,将其中17~22合并得到化合物8。

3 结构鉴定

化合物1 白色粉末,易溶于甲醇和吡啶。分子式为C₇H₆O₃,正离子ESI-MS m/z 139 [M+H]⁺, 161 [M+Na]⁺;负离子ESI-MS m/z 137 [M-H]⁻, 173 [M+Cl]⁻;¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆)数据如下:(6.89 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3和H-5), 7.90 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2和H-6);波谱数据与文献报道^[5]的对羟基苯甲酸一致。

化合物2 白色粉末,易溶于DMSO,在甲醇和吡啶中也易溶。ESIMS m/z 268 [M+H]⁺, 290 [M+Na]⁺, 557 [2M+Na]⁺, 306 [M+K]⁺, 573 [2M+K]⁺, 266 [M-H]⁻, 302 [M+Cl]⁻;¹H NMR (C₅D₅N-*d*₅, 400 MHz): 8.71 (1H, s, H-2), 8.60 (1H, s, H-8), 6.71 (1H, d, H-1'), 8.38 (2H, brs, NH₂),

5.49 (1H, m, H-2'), 5.05 (1H, dd, H-3'), 4.76 (1H, m, H-4'), 4.31, 4.12 (2H, dd, J = 12.3 Hz, H-5a, H-5b)。¹³C NMR (C₅D₅N-*d*₅, 100 MHz): 153.4 (d, C-2), 149.8 (s, C-4), 121.2 (s, C-5), 157.7 (s, C-6), 140.6 (d, C-8) 糖上碳信号: 90.8 (d, C-1), 87.8 (d, C-4), 75.6 (d, C-2), 72.4 (d, C-3), 63.0 (t, C-5) 波谱数据与文献报道^[6]的腺嘌呤核苷一致。

化合物3 无色透明液体。能与乙醚混溶,溶于丙酮,微溶于水和乙醇。ESI-MS m/z 147 [M+H]⁺, 169 [M+Na]⁺, 181 [M+Cl]⁻;¹H NMR (C₅D₅N-*d*₅): 3.59 (3H, s, OCH₃), 2.49 (2H, s, CH₂)。氢谱数据与文献报道^[7]的基本一致。结构鉴定为丁二酸二甲酯。

化合物4 白色粉末,紫外灯下有暗斑,正离子ESI-MS m/z 306 [M+Na]⁺, 284 [M+H]⁺, 负离子ESI-MS m/z 282 [M-H]⁻, 318 [M+Cl]⁻;¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz): 7.92 (1H, s, 8-H), 5.67 (1H, d, J = 6.0 Hz, 1-H), 4.37 (1H, d, J = 4.8 Hz, 2-H), 4.06 (1H, d, J = 3.6 Hz, 3-H), 3.85 (1H, d, J = 3.6 Hz, 4-H), 3.58 (1H, d, J = 4.8, 5a-H), 3.52 (1H, d, J = 4.0 Hz, 5b-H)。对照文献^[8]数据,与文献报道相符合。鉴定为鸟嘌呤核苷。

化合物5 白色粉末,正离子ESI-MS m/z 245 [M+H]⁺, 267 [M+Na]⁺, 243 [M-H]⁻, 279 [M+Cl]⁻;¹H NMR (DMSO-*d*₆): 8.30 (1H, s, NH), 5.63 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.88 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6), 5.39 (1H, H-1)。¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz): 150.8 (C-2), 163.2 (C-4), 101.7 (C-5), 140.7 (C-6);糖上碳信号: 87.7 (d, C-1), 69.8 (d, C-2), 73.5 (d, C-3), 84.8 (d, C-4), 60.8 (t, C-5)。以上数据与文献报道^[9]的尿苷相符合。

化合物6 白色无定形粉末,ESI-MS m/z 684 [M+H]⁺, 682 [M-H]⁻, 718 [M+Cl]⁻。¹H NMR (C₅D₅N-*d*₅, 400 MHz): 8.59 (1H, d, J = 8.8 Hz, NH), 5.10 (1H, m, H-2), 4.62 (1H, m, H-2'), 4.52 (1H, m, H-1a), 4.43 (1H, m, H-1b), 4.31 (1H, m, H-4), 4.29 (1H, m, H-3), 0.84 (6H, m, H-18, 24')。 ¹³C NMR (C₅D₅N-*d*₅, 100 MHz): 175.3 (C-1'), 76.8 (C-3), 73.0 (C-4), 72.5 (C-2'), 62.0 (C-1), 53.0 (C-2), 35.7 (C-3'), 34.2 (C-5), 32.1-23.0 (C-5'-23', 7-17), 26.7 (C-4'), 25.8 (C-6), 14.3 (C-18, 24')。其波谱数据与文献报道一致^[10]。结构鉴定为(2*S*,3*S*,4*R*,2'*R*)-2(2'-羟基二十四碳酰氨

基)十八碳-1,3,4-三醇。

化合物 7 白色针状结晶(甲醇)。ESI-MS m/z 166 $[M + H]^+$, 188 $[M + Na]^+$, 164 $[M-H]^-$, 200 $[M + Cl]^-$, 1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) 谱中, δ : 7.19 ~ 7.28 (5H, m) 为单取代苯环上的质子信号; δ : 3.38 (1H, dd, $J = 5.2, 7.5$ Hz) 为与氮相连的次甲基质子信号; δ : 3.16 (1H, dd, $J = 5.2, 14.5$ Hz)、2.83 (1H, dd, $J = 8.0, 14.5$ Hz) 是与 α -C 相连的亚甲基质子信号。上述波谱数据与文献^[11]对照基本一致,鉴定为苯丙氨酸(phenylalanine)。

化合物 8 无色针状结晶,易溶于吡啶, mp. 196 ~ 198 °C, ESI-MS m/z 169 $[M + H]^+$, 191 $[M + Na]^+$, 337 $[2M + H]^+$, 167 $[M-H]^-$, 203 $[M + Cl]^-$, 1H NMR ($C_5D_5N-d_5$, 400 MHz): 7.32 (1H, m, H-6), 7.60 (1H, m, H-8), 7.67 (1H, d, H-7), 8.13 (1H, d, H-5), 8.29 (1H, m, H-4), 8.56 (1H, d, H-3), 8.85 (1H, s, H-1), 9.26 (1H, s, NH); ^{13}C NMR ($C_5D_5N-d_5$, 100 MHz): 112.4 (d, C-8), 115.0 (d, C-4b), 119.9 (d, C-4), 122.2 (s, C-5), 122.4 (d, C-6), 129.0 (d, C-7), 134.9 (s, C-4a), 135.2 (d, C-1), 137.4 (s, C-3), 139.2 (d, C-9a), 141.8 (s, C-8a)。以上数据与文献报道^[12]的 β -咔啉符合。

参考文献

- 1 Yang ZL, Li TH. Notes on three white amanitae of section phalloideae (amanitaceae) from China. *Mycotaxon*, 2001, 78:439-448.
- 2 Hu JS(胡劲松), Chen ZH(陈作红), Zhang ZG(张志光), et al. Analysis of the main amatoxins and phallotoxins in *Amanita exitialis*, a New Species in China. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2003, 43:642-646.

- 3 Chi YL, Zhang HY, Xue JH, et al. N^2 -(1-Methoxycarbonyl-ethyl)guanosine, a new nucleoside coupled with an amino acid derivative from *Amanita exitialis*. *Chin Chem Lett*, 2009, 20: 830-832.
- 4 Xue JH, Wu P, Chi YL, et al. Cyclopeptides from *Amanita exitialis*. *Nat Prod Bioprospect*, 2011, 1:52-56.
- 5 Tang HF(汤海峰), Yi YH(易杨华), Yao XS(姚新生), et al. Studies on the chemical constituents from marine brown algae *Sargassum carpophyllum*. *Chin J Mar Drugs* (中国海洋药物), 2002, 90(6):11-15.
- 6 Zhang F, Luo SZ, Gao BC, et al. Chemical constituents from the sprout of *pteridium aquilinum varlitiusculum*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2004, 16:121-123.
- 7 Sadtler Research Laboratories(萨德勒研究实验室). Sadtler Standard N. M. R spectra(萨德勒标准光谱), 7-9.
- 8 Zheng XK(郑晓珂), Bi YF(毕跃峰), Feng WS(冯卫生), et al. Study on the chemical constituents of *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2004, 39:266-268.
- 9 Yu DQ(于德泉), Yang JS(杨峻山). Handbook of analytical chemistry(分析化学手册, 第二版, 第七分册), Beijing:Chemical Industry Press, 1999, 907.
- 10 Gong QF(龚庆芳), Zhang YM(张玉梅), Tang NH(谭宁华), et al. Chemical constituents of Basidiomycetes *Russula subnigricans*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2007, 19:436-443.
- 11 Sun Y(孙奕), Lv AL(吕阿丽), Wei L(魏岚), et al. Chemical constituents of *Ulva lactuca* L. *Chin J Med Chem* (中国药物化学杂志), 2008, 18:135-141.
- 12 Song XH(宋晓虹), Liu XH(刘晓红), Lin YC(林永成). Metabolites of mangrove fungus No. K23 and interaction of carboline with DNA. *J Tropic Oceanogr* (热带海洋学报), 2004, 23(3):66-71.

(上接第 31 页)

- 14 Chen HC. Roles of volatiles on the host selection of *Chilo Suppressalis* Walker, *Cnaphalocrocis Medinalis* Guenee and their parasitoids *Cotesia Chilonis* Matsumura, *Cotesia Ruficrus* Haliday. Zhejiang: Zhejiang University, 2002.

- 15 Khan ZR, Pickett JA, van den Berg J, et al. Exploiting chemical ecology and species diversity: Stemborer and striga control for maize and sorghum in Africa. *Pest Manag Sci*, 2000, 56:957-962.