

橘黄裸伞子实体中的多异戊二烯多醇类化合物分离鉴定

王双^{1*}, 宋艳秋²

(1. 大理大学 药学与化学学院, 云南 大理 671000; 2. 大理大学 公共卫生学院, 云南 大理 671000)

[摘要] **目的:** 发现更多的高等真菌次级代谢产物, 研究法国野生致幻真菌橘黄裸伞 *Gymnopilus spectabilis* 子实体的化学成分。**方法:** 采用常压硅胶柱色谱、凝胶色谱和中压液相色谱、制备高效液相色谱等手段对橘黄裸伞子实体的三氯甲烷-丙酮-甲醇(1:1:1)提取物进行分离纯化, 利用核磁共振波谱和高分辨质谱等方法鉴定化合物结构。**结果:** 从法国野生真菌橘黄裸伞子实体中分离得到了 6 个多异戊二烯多醇类化合物, 分别是 gymnopilene A (**1**), hypsiziprenol B₁₀, A₁₀, A₁₁ (**2~4**), gymnopilin A₁₀, 3a(**5,6**)。 **结论:** 化合物 **1** 为新化合物, 命名为 gymnopilene A。化合物 **1~4** 为首次从橘黄裸伞中分离得到。

[关键词] 橘黄裸伞; 多异戊二烯多醇类; 致幻菌; gymnopilene A

[中图分类号] R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)20-0121-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20192015

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190704.1915.003.html>

[网络出版时间] 2019-07-09 10:38

Polyisoprenepolyols from Fruiting Bodies of *Gymnopilus spectabilis*

WANG Shuang^{1*}, SONG Yan-qiu²

(1. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671000, China;

2. School of Public Health, Dali University, Dali 671000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents, especially hallucinogenic substances of fruiting bodies of *Gymnopilus spectabilis* from France. **Method:** The fruiting bodies of *G. spectabilis* were extracted with chloroform-acetone-methanol (1:1:1), then the compounds were isolated and purified by silica gel column chromatography, gel chromatography, MPLC and preparative HPLC. Their structures were identified by spectroscopic analysis methods, such as 1D-NMR, 2D-NMR and MS. **Result:** Six polyisoprenepolyols compounds were isolated and identified from fruiting bodies of *G. spectabilis*, namely gymnopilene A (**1**), hypsiziprenol B₁₀, A₁₀, A₁₁ (**2-4**), gymnopilin A₁₀, 3a (**5-6**). **Conclusion:** Compound **1** is a new compound that is named gymnopilene A, and compounds **1-4** are isolated from *G. spectabilis* for the first time.

[Key words] *Gymnopilus spectabilis*; polyisoprenepolyols; hallucinogenic mushroom; gymnopilene A

橘黄裸伞别名“红环锈伞”“大笑菌”, 隶属于伞菌目, 丝膜菌科, 裸伞属。橘黄裸伞具有致幻作用, 味苦, 食用后产生精神异常, 如同酒醉者一样, 手舞足蹈, 活动不稳, 狂笑, 或意识障碍、谵语, 或产生幻觉, 看到房屋变小东倒西歪, 视力不清等^[1]。

橘黄裸伞作为有名的致幻菌, 其致幻化学成分

研究由来已久, 早在 1968 年有学者从美国野生橘黄裸伞中分离得到了致幻成分光盖伞素 psilocybin 及水解产物光盖伞辛 psilocin^[2-3]。但是 1986 年日本学者对日本的橘黄裸伞进行检测后没有发现光盖伞素类化合物, 并认为其神经兴奋活性物质是该蘑菇的苦味成分 gymnopilins^[4]。此后加拿大、韩国产橘

[收稿日期] 20190523(004)

[基金项目] 云南省科技厅青年项目(KY1713102940); 大理大学中药资源与民族药创新团队项目(ZKLX2019318)

[通信作者] *王双, 博士, 讲师, 从事高等真菌化学研究工作, Tel: 0872-2257411, E-mail: wangshuang@dali.edu.cn

黄裸伞中陆续发现更多 *gymnopilins* 类和 *gymnopilenes* 类化合物^[5-6]。据文献报道 *gymnopilins* 化合物还具有细胞增殖抑制作用^[6]、可抑制烟碱型乙酰胆碱受体活性^[7]。

从结构上看 *gymnopilins* 和 *gymnopilenes* 类化合物均属于多异戊二烯多醇类 (polyisoprenepolyols) 化合物,这类化合物具有明显的特征,结构由 10 ~ 12 个异戊二烯单元组成,中间部分是两个异戊二烯衍生物重复单元,在 NMR 谱中则表现为信号重叠严重^[8-10]。*Gymnopilins* 和 *gymnopilenes* 化合物的区别在于结构末端的不同,从生源上看 *gymnopilenes* 可能是 *gymnopilins* 的前体,性质上 *gymnopilenes* 无苦味而 *gymnopilins* 有苦味。另外 *gymnopilenes* 化合物同样存在于美味蘑菇斑玉蕈子实体中^[8-10]。

除上述成分外,橘黄裸伞子实体中还含有单甘油酯类、炔类化合物、脂肪酸类、甾醇类、苯环衍生物、凝集素等活性化合物^[5,11-13],其中苯环衍生物 hispidin 和 bisnoryangonin 具抗氧化能力^[11],单甘油酯 (2' S)-1-O-(6,6-dimethoxyhexanoyl)-glycerol 可抑制 LPS 活化小鼠小胶质细胞内 NO 的产生^[12]。

为发现更多的高等真菌次级代谢产物,本课题组对采自法国波尔多的橘黄裸伞子实体中脂溶性部分进行了化学成分研究,从中主要分离得到了多异戊二烯多醇类化合物,包括 *gymnopilene* A (**1**), *hypsiziprenol* B₁₀, A₁₀, A₁₁ (**2 ~ 4**), *gymnopilin* A₁₀, **3a** (**5,6**),其中化合物 **1 ~ 4** 属于 *gymnopilenes* 类,化合物 **5,6** 属于 *gymnopilins* 类。化合物 **1** 为新化合物并命名为 *gymnopilene* A,化合物 **1 ~ 4** 均首次从橘黄裸伞中分离得到。

1 材料

DRX-500 型和 AM-400 型核磁共振谱仪 [四甲基硅烷 (TMS) 为内标, Bruker 公司]; 液相四级杆飞行时间质谱仪 (美国领先仿生有限公司); Agilent 1200 HPLC, Agilent Zorbax SB-C₁₈ 分析柱 (美国安捷伦公司); YMC 型制备柱 (日本 YMC 公司); LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶 (Sephadex LH-20, 瑞典 Amersham Biosciences 公司), RP-18 型反相硅胶 (日本 Fuji Silysia 化学公司), 正相硅胶 (青岛海洋化工厂)。

橘黄裸伞子实体于 2012 年采自法国波尔多 (Bordeaux) 阿卡雄 (Arcachon), 由中国科学院昆明植物研究所杨祝良研究员鉴定为伞菌目 (Agaricales), 丝膜菌科 (Cortinariaceae), 裸伞属橘黄裸伞 *Gymnopilus spectabilis*。

2 提取分离

橘黄裸伞干燥子实体 (1.5 kg) 室温下用三氯甲烷-甲醇-丙酮 (1:1:1) 浸泡 3 次, 提取得到浸膏 145 g。样品用正相硅胶柱及石油醚-丙酮洗脱系统进行粗分, 得到部位 A ~ C。A 部位 (石油醚-丙酮 3:1) 经正相硅胶柱, 常压反相硅胶柱, Sephadex LH-20 凝胶柱, 制备 HPLC 等分离纯化手段顺序得到化合物 **2** (10 mg), **3** (8 mg), **4** (5 mg), **1** (6 mg), **6** (11 mg), **5** (5 mg)。各化合物结构见图 1。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末, 可溶于三氯甲烷、甲醇等, ESI-MS m/z 915.77 [M + Na]⁺ (C₅₅H₁₀₄O₈Na), 表明化合物 **1** 相对分子质量为 892, 分子式为 C₅₅H₁₀₄O₈。在 ¹H-NMR 中 δ_H 1.15, 2.00 和 1.27 ~ 1.55 处信号重叠, ¹³C-NMR 谱图中 δ_C 19.4, 27.0, 41.3 ~ 43.4 和 73.4 ~ 73.8 处信号重叠严重, 由此可判断化合物 **1** 含有许多重复的 2-羟基异戊基 (n 个) 和异戊烯基 (m 个) 片段。查阅文献 [5-6] 可知, 化合物 **1** 很可能为多异戊二烯多醇类化合物。通过化合物 **1** 末端基团的 NMR 信号 (表 1 中 C_{1,4}, H_{1,2,4}), 可判断化合物 **1** 仅有甲基、双键和羟基而无醚键和羰基, 通过 HMBC 可知有一末端基团为 3-羟基异戊烯基, 表明化合物 **1** 为 *gymnopilenes* 化合物而非 *gymnopilins* 类。化合物 **1** 的氢谱和碳谱积分数据 (δ_C 112 ~ 136.0, δ_H 5.02 ~ 5.20) 表明其中双键个数为 4, 除去两末端基团中的 2 个双键, 可得 $m = 2$ 。重复片段 2-羟基异戊基中的甲基因羟基影响化学位移比一般甲基偏高场 (δ_C 27.0, δ_H 1.15), 由积分可知 $n = 7$ 。结合 MS 数据验证, 至此化合物 **1** 的结构确定, 经 Scifinder 数据库查验, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为 *gymnopilene* A。

由于 *gymnopilenes* 和 *gymnopilins* 类化合物的结构特点, 还可从化合物的 MS 数据出发, 更简单地得到重复片段 m 和 n 的值, 大致解析过程如下, (1) 看化合物末端基团及重复片段的 NMR 谱信号, 判断化合物属于 *gymnopilenes* 还是 *gymnopilins* 类型; (2) 结合质谱及文献 [4-6, 8-10] 数据, 可以归纳得到下列两个公式, ① $86n + 68m = M - 154$ (n 和 m 均为大于等于 1 的整数, 适用于 *gymnopilene* 类化合物; ② $86n + 68m = M - 332$ (n 和 m 均为 ≥ 1 的整数, 适用于 *gymnopilin* 类化合物)。为方便计算, 元素相对分子质量只保留小数点前数字, 86 和 68 分别为 2 个重复片段相对分子质量, 154 和 332 分别为 2 种末端基团相对分子质量。

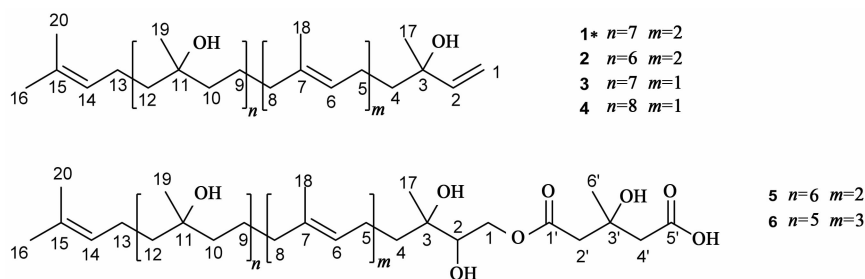


图 1 橘黄裸伞中的化合物 1~6 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-6 from *Gymnopilus spectabilis*

表 1 化合物 1-6 的 ^{13}C 和 ^1H -NMR 数据 (氘代甲醇)

Table 1 ^{13}C -NMR and ^1H -NMR data for compounds 1-6 in CD_3OD

编号	化合物 1~4		化合物 5,6	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	112.0	5.20, 5.02	67.1	4.38, 3.65
2	146.3	5.91	75.7	4.06
3	73.8		74.4	
4	42.7 ^a	1.55 ~ 1.27	42.7	1.55 ~ 1.27
5	23.2 ^b	2.00	23.2 ^c , 27.8	2.00
6	125.8	5.10	125.8 ^d	5.11
7	136.0		136.0	
8	41.3 ^c	2.00	40.3 ^a , 40.9 ^a	2.00
9	19.4	1.55 ~ 1.27	19.4	1.55 ~ 1.27
10	43.4 ^c	1.55 ~ 1.27	43.4 ^a	1.55 ~ 1.27
11	73.4, 73.8		73.5	
12	43.4 ^a , 42.4 ^a	1.55 ~ 1.27	43.4 ^b , 43.3 ^b , 42.2	1.55 ~ 1.27
13	23.7 ^b	2.00	23.7 ^c	2.00
14	125.8	5.10	125.5 ^d	5.11
15	132.0		132.0	
16	25.9	1.67	25.9	1.67
17	27.6	1.24	27.6	1.24
18	15.9	1.62	16.0, 16.1	1.62
19	27.0	1.15	27.0	1.15
20	17.8	1.60	17.8	1.60
1'			172.9	
2'			46.8	2.70
3'			70.9	
4'			46.8	2.62
5'			177.4	
6'			27.0	1.15

注: a~d 表示同列 ^{13}C -NMR 数据中相同编号的数字可能是互换的。

化合物 2~4 解析过程与上类似,其末端基团显示三者均为 gymnopilene 类化合物(NMR 数据见表 1)。化合物 2 ESI-MS m/z 829.70 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 经计算可得 $n = 6, m = 2$, 数据与文献[8]基本一致, 故鉴定为 hypsiziprenol B₁₀; 化合物 3 ESI-MS m/z 847.71

$[\text{M} + \text{Na}]^+$, 经计算可得 $n = 7, m = 1$, 数据与文献[9]基本一致, 故鉴定为 hypsiziprenol A₁₀; 化合物 4 ESI-MS m/z 933.78 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 经计算可得 $n = 8, m = 1$, 数据与文献[8]基本一致, 故鉴定为 hypsiziprenol A₁₁。

化合物 5, 6 根据末端基团 NMR 信号(表 1C_{1',5'}, H_{2',4'})和重叠单元信号, 可判断为 gymnopilin 化合物。化合物 5 ESI-MS m/z 1007.75 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 经计算可得 $n = 6, m = 2$, 与文献[14]数据基本一致, 故可鉴定为 gymnopilin A₁₀。化合物 6 ESI-MS m/z 989.74 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 经计算可得 $n = 5, m = 3$, 与文献[15]数据基本一致, 故可鉴定为 gymnopilin 3a。

[参考文献]

[1] Smith A H. Mushrooms in their natural habitats [M]. Portland; Sawyers Inc, 1949: 471.

[2] CHEN J B, LI M J, YAN X T, et al. Determining the pharmacokinetics of psilocin in rat plasma using ultra-performance liquid chromatography coupled with a photodiode array detector after orally administering an extract of *Gymnopilus spectabilis* [J]. J Chromatogr B, 2011, 879(25): 2669-2672.

[3] Hatfield G M, Valdes L J. The occurrence of psilocybin in *Gymnopilus* species [J]. Lloydia, 1978, 41(2): 140-144.

[4] Tanaka M, Hashimoto K, Okuno T, et al. Neurotoxic oligoisoprenoids of the hallucinogenic mushroom, *Gymnopilus spectabilis* [J]. Phytochemistry, 1993, 34(3): 661-664.

[5] Findlay J A, HE Z Q. Minor constituents of *Gymnopilus spectabilis* [J]. J Nat Prod, 1991, 54(1): 184-189.

[6] Kim K H, Choi S U, Lee K R. Gymnopilin K: a new cytotoxic gymnopilin from *Gymnopilus spectabilis* [J]. J Antibiot, 2011, 65(3): 135-137.

[7] Kayano T, Kitamura N, Miyazaki S, et al. Gymnopilins, a

- product of a hallucinogenic mushroom, inhibit the nicotinic acetylcholine receptor [J]. *Toxicon*, 2014, 81 (C):23-31.
- [8] Akihisa T, Franzblau S G, Tokuda H, et al. Antitubercular activity and inhibitory effect on Epstein-Barr virus activation of sterols and polyisoprenepolyols from an edible mushroom, *Hypsizigus marmoreus* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(6):1117-1119.
- [9] Sawabe A, Morita M, Ouchi S, et al. Fast atom bombardment mass spectrometry and linked scan analyses at constant B/E in the structural characterizaton of new polyisoprenepolyols isolated from an edible mushroom (*Hypsizigus marmoreus*) [J]. *J Mass Spectrom*, 1996, 31(8):921-925.
- [10] Sawabe A, Morita M, Kiso T, et al. Structural analyses of a precursory substance of bitterness: New polyisoprenepolyols isolated from an edible mushroom (*Hypsizigus marmoreus*) by fast atom bombardment mass spectrometry [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47 (2): 588-593.
- [11] Lee I K, Cho S M, Seok S J, et al. Chemical constituents of *Gymnopilus spectabilis* and their antioxidant activity [J]. *Mycobiology*, 2008, 36(1):55-59.
- [12] Suha W S, Leea S R, Kima C S, et al. A new monoacylglycerol from the fruiting bodies of *Gymnopilus spectabilis* [J]. *J Chem Res*, 2016, 47(30):156-159.
- [13] Alborés S, Mora P, Bustamante M J, et al. Purification and applications of a lectin from the mushroom *Gymnopilus spectabilis* [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 172(4):2081-2090.
- [14] Aoyagi F, Maeno S, Okuno T, et al. Gymnopilins, bitter principles of the big-laughter mushroom *Gymnopilus spectabilis* [J]. *Tetrahedron Lett*, 1983, 24 (13): 1991-1994.
- [15] Nakagiri A. Collection, preservation and practical use of mushroom genetic resources [J]. *Bio Resource Now*, 2014, 10(9):1-2.

[责任编辑 顾雪竹]