

石房蛤毒素

王燕芳 周维善

(中国科学院上海有机化学研究所)

石房蛤毒素〔Saxitoxin (STX)〕, 又叫甲藻毒素, 最早是从阿拉斯格奶油蛤 (*Saxidomus giganteus*), 有毒的加州贻贝 (*Mytilus californianus*) 和膝沟藻 (*Gonyaulax catenella*) 中分离到的神经毒素, 是已知的最毒的非蛋白毒素之一。此毒素也在枣形膝沟藻 (*Gonyaulax tamarensis*) 的水花(赤潮) 形成时, 从陈年扇贝中提取到, 海产甲壳动物黄蟹 (*Zosinus aenus Amanioshina*) 中也有存在。

一、STX的分布和毒性〔1〕

膝沟藻是海洋浮游生物的一个重要部分, 产量仅次于硅藻。北大西洋的枣形膝沟藻和北太平洋的无链膝沟藻已经引起严重的经济和污染问题。这些藻类首先由滤食性动物如贝类浓缩毒素, 高等动物再消耗滤食性动物, 中毒就这样由食物链引起。人若吃了这种有毒的贝类, 常引起死亡。早期症状包括唇舌及指尖麻木, 接着肌肉失调, 呼吸困难和死亡。STX的LD₅₀为5—10r/kg (小白鼠的腹腔注射), 要比某些剧毒含磷化合物毒性强得多。比一般的局部麻醉剂如普鲁卡因和可卡因强十多万倍。

石房蛤毒素长期以来为军事实验室所感兴趣。据称, 它不能与用于大量分布的神经毒气相比, 但作为一种毒弹装备较为有价值。用来福枪射出石房蛤毒素到人体, 仅感觉与蚊子咬痛相仿, 但不到十五分钟即死亡。比细菌毒素引起的死亡时间短得多。STX 是一种快速毒素, 中毒后症状在十分钟及四小时之间发作。一个人中毒后若在十二小时内得救, 可以恢复正常。人的口服致死量是 0.2—4mg。在实验

动物中, 注射的致死量比口服量大约小十倍。STX 是强烈的胆碱酯酶抑制剂, 对中枢和外周神经均有强烈的作用。它对中枢的作用主要是对心血管和呼吸中枢的。它妨碍离子的通透, 从而扰乱神经-肌肉的传导。由于它的作用主要在神经膜, 所以近年来多称为神经细胞膜毒素。

二、毒素的提取〔2〕

蛤的毒素含量远较贻贝为低, 但有毒的蛤是毒素的主要来源, 因为有大量供应并且比贻贝易得。在蛤中大约有三分之二的毒素存在于呼吸器官, 待蛤的呼吸器官的毒素在每一百克中含有 5000—10000Mu 或更多一点 (Mu 是小白鼠单位, 用 1.0ml 含有毒素的水溶液注射到小白鼠的腹腔, 一只体重20克的小白鼠如在15分钟后死亡称为 1 Mu) 时才收集。但对贻贝的肝或消化腺的毒素要在每毫克有 0.5Mu 或多一点时才收集。毒蛤的水提取物酸化后所得到的固体中, 常含有约 0.5—2Mu 的毒素, 而从贻贝提取物所得的每毫克固体中常含有 2—8 Mu 的毒素。将蛤的呼吸器官装成罐头, 冷冻直至可用酸性乙醇水磨碎; 贻贝的消化腺也可用酸性乙醇水磨碎, 在这种条件下操作, 毒素在长时间内稳定。从 600 磅蛤的呼吸器官经过纯化可得 27×10^6 Mu/600L 溶液。大多数酸性或中性杂质可以被 Amberlite IRC-50 (羧酸钠型的离子交换树脂) 除去, 留在树脂上的大部分钠离子, 可用饱和醋酸钠缓冲在 pH4 的 1 M AcOH 冲洗, 这一步常常有 5% 的损失。用 0.5M AcOH 冲洗, 可得 90% 以上的毒素, 其毒性为每毫克 100—500Mu。再经过一次 Amberlite IRC-50 的纯化, 得每毫克为 2500

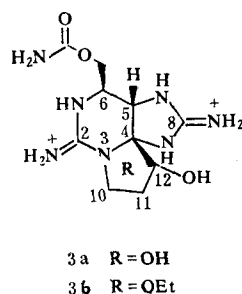
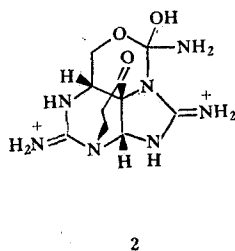
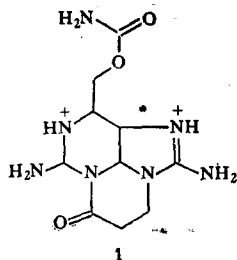
Mu或多一点的毒素。然后用Al₂O₃柱层析,纯化得每毫克5000Mu的毒素(α)²⁵D + 130 ± 5°。从原料经过所有这些步骤纯化可回收15—30%的毒素。如把较不纯部分再行纯化,可增至50%的回收率。

STX 还可从无链膝沟藻的培养来获得。用1升海水加入100mgKNO₃, 10mgK₂HPO₄, 100mgFeCl₃及0.05mgNa₂S₂O₃, 用NaOH调节pH值为8.6, 加入1ml含有20000无链膝沟藻细胞到10ml培养液中, 在13—15°C培养12天。此培养基接种在1000ml培养液中, 在13—15°C培养17天。17天后毒素浓度每毫升含有30000个细胞, 经过滤收集。以后用如同从蛤中得到毒素方法处理, 可获得每毫克约5000Mu(α)D + 128°的毒素, 总产率约为抽提物所含毒素的50%, 它与直接从贻贝及蛤获得的STX的浓度及纯度相同。

三、STX结构的测定〔3〕

石房蛤毒素含有三个环, 是3, 4, 6-三烷基取代的四氢嘌呤, C-10和C-12分别搭在N-3和C-4上形成第三个环。这个环上有一个水合的酮。嘌呤的C-2和C-8各有一个NH₂基, 此NH₂基是分子中的胍基, C-6由—CH₂—O—CONH₂所取代。C-12羰基极易水化, 大约由于在2位碳有强烈吸电子的胍基之故。

虽然Schantz〔3〕等已在1957年得到数克纯的STX, 但由于它不是结晶体, 又具有高极性及不挥发的特点, 不能用质谱及直接用X射线结晶分析, 同时也不能获得适宜的衍生物, 如盐类、酰类、烷类及硅醚类等。所以确



定STX的结构式很为困难。1964年曾确定STX为1的结构, 七年后改正为2的结构, 直到1975年由于成功地获得了STX-对溴苯磺酸酯〔4〕和乙基半缩酮双盐酸盐3b〔5〕单晶而经X射线测定它的结构为3a。

四、消旋STX的全合成

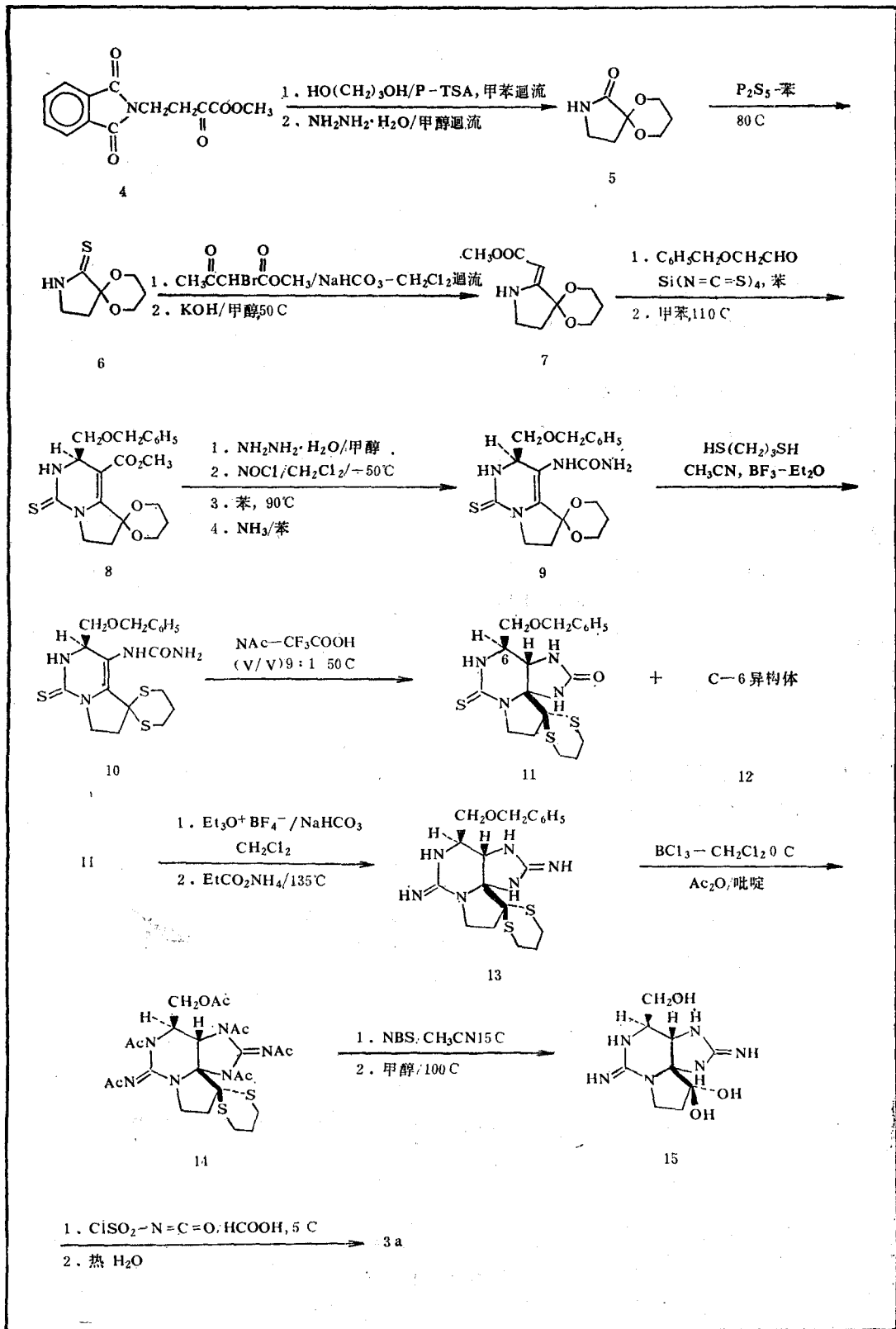
1977年美国哈佛大学Kish等人〔6〕首次完成了消旋石房蛤毒素的全合成, 总共17步(见4—15—3a), 总得率为0.3%。合成的STX是无定形固体, 经NMR, TLC和毒性比较, 证明与天然的STX是同一物质。

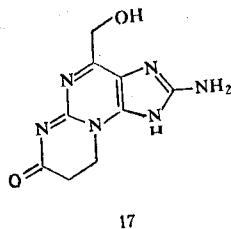
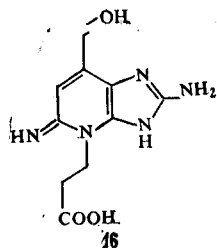
五、毒素的测定

贝壳中的石房蛤毒素现用小白鼠作生物测定。不过要在1g贝壳中有0.3mg的石房蛤毒素才可以被鉴定出来。但实际浓度较低, 故不能测出。因为在贝壳中存在的钠离子抵消了STX的作用。此外这个方法还存在若干其它缺点, 如较为麻烦等。改用抗体-抗原方法, 结果也不可靠。STX用碱性H₂O₂氧化生成8-氨基-6-羟甲基-2-亚胺基-嘌呤-3(2H)丙酸16, 遇酸生成17。16可在pH为5时测定其荧光。这个化学测定方法比现在所用的生物方法灵敏高100倍, 可省去不少麻烦, 特别对低浓度STX更为有用。Ikawa的荧光TLC鉴定法可测定40—400ng这类毒素。

六、STX的类似物18

含石房蛤毒素的海洋生物种类多, 分布广。自分离到石房蛤毒素后, 又陆续报道了从膝沟藻(*Gonyaulax*)和受赤潮侵袭过的贝类样





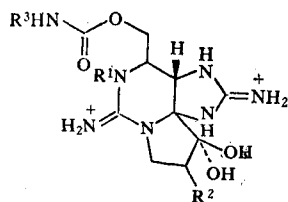
品中分离到了STX及与STX结构有关的九种毒素。其中一种称为Neo-STX, 其它是GTX I—VIII。现在Neo-STX及GTX I—IV和VIII的结构已经确定。

新石房蛤毒素Neo-STX最初从有毒的阿拉斯格奶油蛤中作为微量成份分出, 后来在培养的膝沟藻*G. tamarensis*中以主要毒素分出, 它的结构为1位氮上羟基取代的STX。GTX II和III在1976年报道为11-羟基STX的两个差向异构体, 现已确定为d和e的结构, 即11-硫酸盐基STX的一对差向异构体。GTX I和IV为11-硫酸盐基Neo-STXc和f。在溶液中, GTX II和III的缓慢平衡形成4:1混合物, GTX IV异构化产生GTX I和IV为5:1的平衡混合物。GTX VIII是GTX III的氨基甲酸酯基上的硫酸盐。用0.1N HCl在37°C处理GTX VIII七天或用0.05 N HCl 85°C处理30分钟, GTX VIII会定量地转

化为GTX III。GTX VIII在室温会逐渐形成它和其差向异构体h的1:2混合物。

参 考 文 献

- [1] Shimizu, Y. et al., 1977. Chemistry and distribution of deleterious dinoflagellate toxins, Marine Natural Products Chemistry. Plenum Press New York and London, pp 261—269.
- [2] Schantz, E. J. et al., 1957. Paralytic Shellfish Poison VI. A procedure for the isolation and purification of the poison from toxic clam and mussel tissues. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 5230—5235.
- [3] Mold, J. D. et al., 1957. Paralytic Shellfish Poison VII. Evidence for the purity of the poison isolated from toxic clams and mussels. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 5235—5238.
- [4] Schantz, E. J. et al., 1975. The structure of saxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.* 97 (5): 1238—1239.
- [5] Bordner, J. et al., 1975. The structure of a crystalline derivative of saxitoxin. The structure of saxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.* 97 (21): 6008—6012.
- [6] Tanino, H. et al., 1977. A stereospecific total synthesis of d, l-saxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.* 99(8): 2818—2819.



- | | | |
|---|---|----------|
| a) R ¹ = H, | R ² = R ³ = H, | STX |
| b) R ¹ = OH, | R ² = R ³ = H, | Neo-STX |
| c) R ¹ = OH, | R ² = α-OSO ₃ ⁻ , R ³ = H | GTX I |
| d) R ¹ = R ³ = H, | R ² = α-OSO ₃ ⁻ , | GTX II |
| e) R ¹ = R ³ = H, | R ² = β-OSO ₃ ⁻ , | GTX III |
| f) R ¹ = OH, | R ² = β-OSO ₃ ⁻ , R ³ = H | GTX IV |
| g) R ¹ = H, | R ² = β-OSO ₃ ⁻ , R ³ = OSO ₃ ⁻ | GTX V |
| h) R ¹ = H, | R ² = α-OSO ₃ ⁻ , R ³ = OSO ₃ ⁻ | GTX VIII |