僵蚕化学成分的研究

程锁明[1,2]，翟银成[1]，薛　芳[1]，王金辉[2,3*]

1. 昌吉市农产品质量安全检验检测中心，新疆 昌吉　831100
2. 石河子大学药学院/新疆特种植物药资源重点实验室，新疆 石河子　832000
3. 沈阳药科大学中药学院，辽宁 沈阳　110016

摘　要：目的　对僵蚕 *Bombyx Batryticatus* 化学成分进行分离鉴定。**方法**　采用溶剂提取、萃取、反复硅胶柱色谱、ODS、制备液相色谱等方法进行分离纯化，根据化合物的理化性质和光谱数据鉴定其结构。**结果**　从僵蚕 95%乙醇提取物中分离得到 12 个化合物，分别鉴定为 (3α,6β)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮（**1**）、(3α,6α)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮（**2**）、氧麦角甾醇（**3**）、22*E*-3β-羟基-5α,6α-环氧麦角甾-22-烯-7-酮（**4**）、5α,6α-环氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-8 (14),22-二烯-3β,7α-二醇（**5**）、7α-甲氧基-(22*E*,24*R*)-5α,6α-环氧麦角甾-8(14),22-二烯-3β-醇（**6**）、(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,22-三烯-3β-醇（**7**）、豆甾醇-7,22-二烯-3β,5α,6α-三醇（**8**）、3β,5α-二羟基-(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-6-酮（**9**）、(22*E*,24*S*)-5α,8α-环二氧-24-甲基-胆甾-6,9(11),22-三烯 3β-醇（**10**）、高精氨酸（**11**）、β-谷甾醇（**12**）。**结论**　化合物 **1**～**11** 为首次从该药材中分离得到。

关键词：僵蚕；吗啡啉二酮；氧麦角甾醇；22*E*-3β-羟基-5α,6α-环氧麦角甾-22-烯-7-酮；高精氨酸

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2015)24 - 3630 - 07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.24.003

Chemical constituents of *Bombyx Batryticatus*

CHENG Suo-ming[1,2], ZHAI Yin-cheng[1], XUE Fang[1], WANG Jin-hui[2,3]

1. Changji Center of Inspection and Testing for Quality and Safety of Agricultural Products, Changji 831100, China
2. Key Laboratory of Phytomedicine Resources & Modernization of TCM, School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832000, China
3. School of Traditional Chinese Materica Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective　To investigate the chemical constitutes of *Bombyx Batryticatus*. **Methods**　The compounds were isolated by means of solvent extraction, repeated silica gel column chromatography, ODS, and preparative RP-HPLC. The structures were identified by spectral analysis and chemical evidence. **Results**　Four compounds of steroids were isolated from the *Bombyx Batryticatus* and were identified as (3α,6β)-3-benzyl-6-isopropyl-4-methyl-2,5-morpholinedione (**1**), (3α,6α)-3-benzyl-6-isopropyl-4-methyl-2,5-morpholinedione (**2**), 5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien-3β-ol (**3**), 22*E*-3β-hydroxy-5α,6α-epoxyergosta-22-en-7-one (**4**), 5α,6α-epoxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-8(14),22-diene-3β,7α-diol (**5**), 7α-methoxy-(22*E*,24*R*)-5α,6α-epoxyergosta-8(14),22-diene-3β-ol (**6**), (22*E*,24*R*)-ergosta-5,7,22-trien-3β-ol (**7**), stigmasta-7,22-diene-3β,5α,6α-triol (**8**), 3β,5α-dihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-6-one (**9**), (22*E*,24*S*)-5α,8α-epidioxy-24-methylcholesta-6,9(11),22-trien-3β-ol (**10**), homoarginine (**11**), and β-sitosterol (**12**). **Conclusion**　Compounds **1**—**11** are isolated from *Bombyx Batryticatus* for the first time.

Key words: *Bombyx Batryticatus*; morpholinedione; 5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien-3β-ol; 22*E*-3β-hydroxy-5α,6α-epoxyergosta-22-en-7-one; homoarginine

僵蚕 *Bombyx Batryticatus* 异名为天虫、僵虫、白僵虫[1]，僵蚕入药始载于《本经》，列为中品。它为蚕蛾科昆虫家蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 4～5 龄的幼虫感染（或人工接种）白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillant 而致死的干燥体，多于春、秋季生产，将感染白僵菌病死的蚕干燥。其味咸辛，性平，归

收稿日期：2015-07-06

基金项目：国家科技支撑计划 2012（BAI30B02）

作者简介：程锁明，男，甘肃天水人，硕士，助理研究员，主要从事天然药物化学成分、农药残留、农药化学成分及其含量的研究。E-mail: chengsuoming1hao@163.com

***通信作者**　王金辉（1972—），男，教授，博士研究生导师，主要从事天然药物化学成分的研究。E-mail: tcm_shz@aliyun.com

肝、肺、胃经；息风止痉、祛风止痛、化痰散结；用于肝风夹痰、惊痫抽搐、小儿急惊、破伤风、中风口㖞、风热头痛、目赤咽痛、风疹瘙痒、发颐疙腮[2]。白僵蚕主要分布于四川、广西、江苏、浙江、安徽、山东、甘肃等省，且以四川省质量最优[3]。目前，关于白僵蚕药理活性的研究，国内外已有大量文献报道，但对其化学成分的研究报道还比较少，为进一步开发利用白僵蚕，本课题对白僵蚕醋酸乙酯部位化学成分进行了分离、鉴定，白僵蚕中分离得到 12 个化合物，根据化合物的理化性质和光谱数据分别鉴定为 (3α,6β)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮 [(3α,6β)-3-benzyl-6-isopropyl-4-methyl-2,5-morpholinedione，**1**]、(3α,6α)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮 [(3α,6α)-3-benzyl-6-isopropyl-4-methyl-2,5-morpholinedione，**2**]、氧麦角甾醇（5α,8α-epidioxyergosta-6,22-dien- 3β-ol，**3**）、22*E*-3β-羟基-5α,6α-环氧麦角甾-22-烯-7-酮（22*E*-3β-hydroxy-5α,6α-epoxyergosta-22-en-7-one，**4**）、5α,6α-环氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-8(14),22-二烯-3β,7α-二醇 [5α,6α-epoxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-8(14),22-diene-3β,7α-diol，**5**]、7α-甲氧基-(22*E*,24*R*)-5α,6α-环氧麦角甾-8(14),22-二烯-3β-醇 [7α-methoxy-(22*E*,24*R*)-5α,6α-epoxyergosta-8(14),22-diene-3β-ol，**6**]、(22*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,22-三烯-3β-醇 [(22*E*,24*R*)-ergosta-5,7,22-trien-3β-ol，**7**]、豆甾醇-7,22-二烯- 3β,5α,6α-三醇（stigmasta-7,22-diene-3β,5α,6α-triol，**8**）、3β,5α-二羟基-(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-6-酮 [3β,5α-dihydroxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-7,22-diene-6-one，**9**]、(22*E*,24*S*)-5α,8α-环二氧-24-甲基-胆甾-6,9(11),22-三烯-3β-醇 [(22*E*,24*S*)-5α,8α-epidioxy-24-methyl-cholesta-6,9(11),22-trien-3β-ol，**10**]、高精氨酸（homoarginine，**11**）、β-谷甾醇（β-sitosterol，**12**）。

1 仪器与材料

X-5 显微熔点测试仪（北京泰克仪器有限公司）；Shimadzu UV-2401 紫外-可见分光光度计（日本岛津公司）；IRAffinity-1 FTIR 红外光谱仪（Shimadzu）；Varian Vnmrs 600 型核磁共振光谱仪（瑞士 Bruker 公司）；Adeventurer^{TM} AR1140 万分之一电子分析天平（美国 Ohaus 公司）；Waters 600 Separations Module 高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；Waters LCT Premier XE time-of-flying 质谱仪（美国 Waters 公司）；ODS（10～30 μm，北京绿百草科技发展有限公司）；薄层硅胶 GF_{254}、柱色谱硅胶（青岛海洋化工厂生产）。色谱甲醇（J.T Baker 生产）；其他试剂均为分析纯，市售。

僵蚕 2010 年 10 月购于沈阳药材市场，经石河子大学药学院谭勇教授鉴定为僵蚕 *Bombyx Batryticatus*，标本（20101001）保存于石河子大学药学院。

2 提取与分离

取僵蚕药材 10 kg，95%乙醇回流提取 3 次，浓缩得浸膏 810 g，将浸膏混悬于水中用醋酸乙酯萃取 5 次，得醋酸乙酯部位 376 g，该部位经硅胶柱色谱，石油醚-醋酸乙酯（100∶0→0∶100）梯度洗脱，TLC 分析后将相似部分合并得到 42 个流分（Fr. 1～Fr. 42）。其中 Fr. 10（9.87 g）再经硅胶柱色谱分离，石油醚-醋酸乙酯（100∶0→0∶100）梯度洗脱，得到 3 个流分（Fr. 10-1～10-3），Fr. 10-1（235 mg）及 Fr. 10-2（121 mg）均分别经过反复柱色谱硅胶分离纯化得化合物 **7**（20 mg）、**12**（103 mg）；Fr. 10-3（4.09 g）经开放式 ODS 柱色谱甲醇-水溶剂系统梯度洗脱，以 80%甲醇水溶液所得流分经制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（85∶15），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **8**（14 mg）、**9**（10 mg），以 90%甲醇水溶液所得流分经半制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（83∶17），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **3**（25 mg）、**10**（19 mg）；Fr. 21（0.54 g）先经过硅胶柱石油醚-醋酸乙酯-丙酮溶剂系统（100∶0∶0→100∶8∶8）进行梯度洗脱所得流分再经开放式 ODS 柱色谱甲醇-水溶剂系统梯度洗脱，以 50%～70%甲醇水溶液洗脱所得流分经半制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（65∶35），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **2**（11 mg）；Fr. 24（1.74 g）经开放式 ODS 柱色谱甲醇-水溶剂系统梯度洗脱，以 90%甲醇水溶液洗脱所得流分经制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（87∶13），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **4**（22 mg）；Fr. 31（1.61 g）经开放式 ODS 柱色谱甲醇-水溶剂系统梯度洗脱，以 70%～80%甲醇水溶液下洗脱流分经半制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（75∶25），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **11**（20 mg）；Fr. 36（1.04 g）经开放式 ODS 柱色谱甲醇-水溶剂系统梯度洗脱，以 80%甲醇水溶液下洗脱流分经半制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（80∶20），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **5**（29 mg）、**6**（8 mg）；Fr. 38（1.57 g）经开放式 ODS 柱色谱甲醇-水溶剂系统梯度洗

脱，以 60%～70%甲醇水溶液下洗脱流分经半制备 HPLC [Sun Fire^{TM} Prep C_{18}，甲醇-水（65∶35），3 mL/min] 分离纯化得化合物 **1**（84 mg）。

3　结构鉴定

化合物 **1**：白色结晶（甲醇），mp 102～104 ℃，$[\alpha]_D^{23}$ +62.4°（*c* 0.1，甲醇），UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 205；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 2 967, 2 317, 1 751, 1 663, 1 184, 1 018, 700；ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z*: 523.283 4 $[2M+H]^+$（$C_{30}H_{39}N_2O_6^+$，计算值 523.280 8），相对分子质量为 261，确定分子式为 $C_{15}H_{19}NO_3$，不饱和度为 8。^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) *δ*: 5.79 (1H, dd, *J* = 12.9, 4.8 Hz, H-3), 4.83 (1H, d, *J* = 3.0 Hz H-6), 3.03 (1H, m, H-1′), 3.40 (1H, d, *J* = 4.2 Hz, H-1′), 7.25 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-3′), 7.25 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-4′), 7.17 (1H, m, H-5′), 7.25 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-6′), 7.25 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-7′), 1.80 (1H, m, H-1″), 0.24 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-2″), 0.85 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-3″), 3.14 (3H, s, H-4″)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) *δ*: 170.9 (C-2), 57.8 (C-3), 173.1 (C-5), 77.2 (C-6), 35.4 (C-1′), 138.0 (C-2′), 129.7 (C-3′), 129.8 (C-4′), 128.0 (C-5′), 129.7 (C-6′), 129.8 (C-7′), 31.3 (C-1″), 17.2 (C-2″), 19.1 (C-3″), 32.2 (C-4″)。HMBC（图 1）显示 H-1′a 与苯环上碳 C-2′, C-3′, C-7′及 C-3 相关，并且苯环上 H-3′/7′与 C-1′相关确定其存在结构片段 2′-苄基；而 H-1′a 与 C-2，C-3 相关，2 个次甲基 H-3，H-6 分别于 C-2，C-5 相关，含氮甲基质子 H-4″与 C-3，C-5 相关确定其结构片段 4-甲基吗啡啉-2,5-二酮；1 个次甲基 H-1″与 C-6，C-1″，C-2″相关表明存在异丙基结构片段，而 C-1′和 C-6 是这 3 个片段的结合点，综上所述化合物平面结构为 3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮。在 NOESY 谱中，H-3 与 H-6 没有直接相关确定 C-3 (-CH-) 为 α-构型，C-6 (-CH-) 是 β-构型；以上数据与文献报道基本一致[4]，故鉴定化合物 **1** 为 (3α,6β)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮。

化合物 **2**：黄色结晶（甲醇），mp 129～131 ℃，$[\alpha]_D^{23}$ +92.2° (*c* 0.1，甲醇)，UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 206；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 2 934, 2 317, 1 744, 1 674, 1 368, 1 260, 1 124, 1 045；ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z*: 260.127 5 $[M-H]^-$（$C_{15}H_{18}NO_3^-$，计算值 260.128 7），确定其分子式为 $C_{15}H_{19}NO_3$，相对分子质量为 261，不饱和度为 8。^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) *δ*: 4.64 (1H, dd, *J* = 12.9, 4.8 Hz, H-3), 3.01 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 3.24 (1H, dd, *J* = 14.4, 3.6 Hz, H-1′), 3.30 (1H, m, H-1′), 7.34 (1H, m, H-3′), 7.15 (1H, m, H-4′), 7.33 (1H, m, H-5′), 7.15 (1H, m, H-6′), 7.34 (1H, m, H-7′), 0.71 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-1″), 1.91 (1H, d, *J* = 6.6 Hz, H-2″), 1.19 (2H, m, H-3″), 0.67 (3H, s, H-4″), 3.07 (3H, s, H-5″)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) *δ*: 169.1 (C-2), 63.7 (C-3), 167.9 (C-5), 79. 7 (C-6), 37.7 (C-1′), 136.3 (C-2′), 131.1 (C-3′), 130.2 (C-4′), 129.2 (C-5′), 130.2 (C-6′), 131.1 (C-7′), 13.7 (C-1″), 37.3 (C-2″), 26.5 (C-3″), 11.9 (C-4″), 32.7 (C-5″)。以上波谱数据以及 HMBC 相关性表明该化合物和 **1** 基本一致。但是 NOESY（图 1）显示 H-3 和 H-6 相关表明 C-3 (-CH-)，C-6 (-CH-) 为 α-构型。结合 IR、UV、ESI-TOF-MS 等数据及文献报道[4]，最终确定化合物 **2** 为 (3α,6α)-3-苄基-6-异丙基-4-甲基-2,5-吗啡啉二酮。

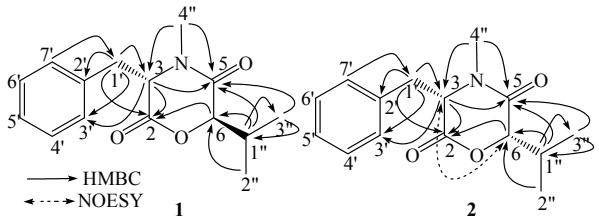

图 1　化合物 1、2 的结构及重要 HMBC、NOESY 相关

Fig. 1　Structure and key HMBC and NOESY correlations of compounds 1 and 2

化合物 **3**：白色针晶（氯仿），mp 182～184 ℃，$[\alpha]_D^{20}$ −20.0°（*c* 0.2，氯仿），分子式为 $C_{28}H_{44}O_3$，相对分子质量为 428，不饱和度为 7。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 1.24 (2H, m, H-1), 1.31～1.41 (2H, m, H-2), 3.96 (1H, m, H-3), 1.46～1.61 (2H, m, H-4), 6.23 (1H, d, *J* = 13.2 Hz, H-6), 56.5 (1H, d, *J* = 12.6 Hz, H-7), 1.90～196 (1H, m, H-9), 1.42～1.61 (2H, m, H-11), 1.42～1.61 (2H, m, H-12), 1.91 (1H, m, H-14), 2.05～2.13 (2H, m, H-15), 1.31～1.61 (2H, m, H-16), 1.24 (1H, m, H-17), 0.81 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 1.92～1.98 (1H, m, H-20), 0.81 (3H, d, *J* = 4.8 Hz, H-21), 5.15 (1H, dd, *J* = 13.2, 10.2 Hz, H-22), 5.22 (1H, dd, *J* = 13.2, 10.2 Hz, H-23), 1.84～1.87 (1H, m, H-24), 1.45 (1H, m, H-25), 0.91 (3H, d, *J* = 10.2 Hz, H-26), 0.83 (3H, d, *J* = 9.6 Hz, H-27), 1.00 (3H, d, *J* = 10.2 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz,

$CDCl_3$) δ: 34.9 (C-1), 30.3 (C-2), 66.6 (C-3), 37.1 (C-4), 82.4 (C-5), 135.6 (C-6), 130.9 (C-7), 79.6 (C-8), 51.3 (C-9), 31.1 (C-10), 23.6 (C-11), 39.5 (C-12), 44.7 (C-13), 51.9 (C-14), 20.9 (C-15), 28.8 (C-16), 56.4 (C-17), 13.1 (C-18), 18.4 (C-19), 39.9 (C-20), 21.1 (C-21), 135.4 (C-22), 132.5 (C-23), 43.0 (C-24), 33.2 (C-25), 20.8 (C-26), 20.1 (C-27), 17.8 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致[5]，故鉴定化合物 **3** 为过氧麦角甾醇。

化合物 **4**：无色结晶（氯仿），分子式为 $C_{28}H_{44}O_3$，相对分子质量为 428，不饱和度为 7。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 1.23 (2H, m, H-1), 1.40～1.47 (2H, m, H-2), 3.87 (1H, m, H-3), 1.58～1.69 (2H, m, H-4), 3.04 (1H, d, J = 13.2 Hz, H-6), 1.90～1.99 (1H, m, H-8), 1.96～2.03 (1H, m, H-9), 1.40～1.47 (2H, m, H-11), 1.40～1.47 (2H, m, H-12), 1.85 (1H, m, H-14), 2.19 (2H, t, J = 3.1 Hz, H-15), 1.23～1.28 (2H, m, H-16), 1.26 (1H, m, H-17), 0.67 (3H, s, H-18), 1.03 (3H, s, H-19), 1.93 (1H, m, H-20), 1.00 (3H, d, J = 9.0 Hz, H-21), 5.13 (1H, m, H-22), 5.20 (1H, m, H-23), 1.85 (1H, m, H-24), 1.45 (1H, m, H-25), 0.81 (3H, d, J = 10.2 Hz, H-26), 0.83 (3H, d, J = 9.6 Hz, H-27), 0.91 (3H, d, J = 10.2 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 33.1 (C-1), 31.1 (C-2), 69.0 (C-3), 39.0 (C-4), 68.3 (C-5), 63.3 (C-6), 207.8 (C-7), 47.0 (C-8), 43.6 (C-9), 35.3 (C-10), 25.1 (C-11), 39.8 (C-12), 44.1 (C-13), 52.2 (C-14), 21.4 (C-15), 28.7 (C-16), 55.4 (C-17), 12.5 (C-18), 15.8 (C-19), 40.4 (C-20), 21.3 (C-21), 135.7 (C-22), 132.3 (C-23), 43.1 (C-24), 33.3 (C-25), 20.2 (C-26), 19.9 (C-27), 17.9 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致[6-7]，故鉴定化合物 **4** 为 22*E*-3β-羟基-5α,6α-环氧麦角甾-22-烯-7-酮。

化合物 **5**：白色粉末（甲醇），mp 123 ℃；$[\alpha]_D^{20}$ −58°（*c* 0.1, 甲醇）；UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 207；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 345, 2 958, 2 870, 1 463, 1 369, 967；HR-ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 429.335 7 $[2M+H]^+$（$C_{28}H_{45}O_3$，计算值 429.336 9），相对分子质量为 428，确定其分子式为 $C_{28}H_{44}O_3$，不饱和度为 7。^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 1.23 (2H, m, H-1), 1.46 (2H, m H-2), 4.25 (1H, brs, H-3), 1.36 (1H, m, H-4), 2.12 (1H, m, H-4), 3.31 (1H, m, H-6), 4.41 (1H, brs, H-7), 2.43 (1H, m, H-9), 1.45 (1H, m, H-11), 1.53 (1H, m, H-11), 1.22 (1H, m, H-12), 1.88 (1H, m, H-12), 2.24 (1H, m, H-15), 2.47 (1H, m, H-15), 1.39 (1H, m, H-16), 1.67 (1H, m, H-16), 1.05 (1H, m, H-17), 0.88 (3H, s, H-18), 0.91 (3H, s, H-19), 2.13 (1H, m, H-20), 1.03 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 5.21 (1H, dd, J = 16.0, 7.5 Hz, H-22), 5.23 (1H, dd, J = 16.0, 7.5 Hz, H-23), 1.86 (1H, m, H-24), 1.46 (1H, m, H-25), 0.84 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-26), 0.86 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-27), 0.94 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 33.4 (C-1), 31.9 (C-2), 69.2 (C-3), 40.2 (C-4), 68.0 (C-5), 62.6 (C-6), 65.8 (C-7), 126.6 (C-8), 40.5 (C-9), 37.1 (C-10), 20.6 (C-11), 37.9 (C-12), 44.4 (C-13), 152.8 (C-14), 25.7 (C-15), 28.5 (C-16), 58.2 (C-17), 18.2 (C-18), 16.9 (C-19), 40.7 (C-20), 21.8 (C-21), 136.9 (C-22), 133.4 (C-23), 44.1 (C-24), 34.4 (C-25), 20.1 (C-26), 20.2 (C-27), 18.6 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致[8-9]，故鉴定化合物 **5** 为 5α,6α-环氧-(22*E*,24*R*)-麦角甾-8(14),22-二烯-3β,7α-二醇。

化合物 **6**：白色粉末（甲醇），mp 123 ℃；$[\alpha]_D^{20}$ −106°（*c* 0.05, 甲醇）；UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 204；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 406, 1 719, 1 516, 1 441, 1 227；HR-ESI-TOF-MS 给出准分子离子峰 465.334 0 $[M+Na]^+$（$C_{29}H_{46}O_3Na$，计算值 465.334 5），$[2M+Na]^+$ 907.680 1（$C_{58}H_{92}O_6Na$，计算值 907.679 2）确定其分子式为 $C_{29}H_{46}O_3$，相对分子质量为 442，不饱和度为 7。^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 1.22 (2H, m, H-1), 1.45 (2H, m, H-2), 3.74 (1H, m, H-3), 1.36 (1H, m, H-4), 2.12 (1H, m, H-4), 3.25 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-6), 4.19 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-7), 2.35 (1H, m, H-9), 1.45 (1H, m, H-11), 1.53 (1H, m, H-11), 1.22 (1H, m, H-12), 1.88 (1H, m, H-12), 2.24 (1H, m, H-15), 2.47 (1H, m, H-15), 1.39 (1H, m, H-16), 1.67 (1H, m, H-16), 1.05 (1H, m, H-17), 0.91 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-19), 2.13 (1H, m, H-20), 1.03 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21), 5.22 (1H, m, H-22), 5.23 (1H, m, H-23), 1.87 (1H, m, H-24), 1.53 (1H, m, H-25), 0.86 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-26), 0.84 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-27), 0.94 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-28), 3.31 (3H, brs, -OCH_3)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ: 33.4 (C-1), 31.9 (C-2), 69.2 (C-3), 40.4 (C-4), 66.9 (C-5), 55.1 (C-6), 74.3 (C-7), 124.1 (C-8), 41.5 (C-9), 37.1 (C-10), 20.5 (C-11), 37.8 (C-12), 44.3 (C-13), 154.6 (C-14), 25.8

(C-15), 28.4 (C-16), 58.2 (C-17), 18.2 (C-18), 16.9 (C-19), 40.6 (C-20), 21.8 (C-21), 136.8 (C-22), 133.4 (C-23), 44.4 (C-24), 34.4 (C-25), 20.1 (C-26), 20.2 (C-27), 18.6 (C-28), 59.3 (-OCH_3)。以上波谱数据与文献报道基本一致[10]，故鉴定化合物 **6** 为 7α-甲氧基-(22*E*,24*R*)-5α,6α-环氧麦角甾-8(14),22-二烯-3β-醇。

化合物 **7**：黄色油状（氯仿），mp 89～91 ℃，$[\alpha]_D^{20}$ +28°（*c* 0.1, 氯仿），UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 251；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 340, 2 955, 2 871, 1 459, 1 369；HR-ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z* 397.348 8 $[M+H]^+$（$C_{28}H_{45}O$，计算值 397.347 0），相对分子质量为 396，确定其分子式为 $C_{28}H_{44}O$，不饱和度为 7。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 1.66 (1H, m, H-1), 2.04 (1H, m, H-1), 1.55 (1H, m, H-2), 1.90 (1H, m, H-2), 3.74 (1H, m, H-3), 2.29 (1H, m, H-4), 2.48 (1H, d, *J* = 13.8 Hz, H-4), 5.58 (1H, s, H-6), 5.39 (1H, s, H-7), 1.36 (1H, m, H-9), 1.45 (1H, m, H-11), 1.53 (1 H, m, H-11), 1.22 (1H, m, H-12), 1.88 (1H, m, H-12), 2.24 (1H, m, H-15), 2.47 (1H, m, H-15), 1.39 (1H, m, H-16), 1.67 (1H, m, H-16), 0.95 (1H, m, H-17), 0.64 (3H, s, H-18), 0.95 (3H, s, H-19), 2.04 (1H, m, H-20), 1.04 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-21), 5.18 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.7 Hz, H-22), 5.21 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.7 Hz, H-23), 1.87 (1H, m, H-24), 1.50 (1H, m, H-25), 0.83 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-26), 0.92 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-27), 1.04 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) *δ*: 38.3 (C-1), 31.9 (C-2), 70.3 (C-3), 40.7 (C-4), 139.8 (C-5), 119.5 (C-6), 116.2 (C-7), 141.3 (C-8), 46.1 (C-9), 37.0 (C-10), 21.0 (C-11), 39.0 (C-12), 42.8 (C-13), 54.5 (C-14), 22.9 (C-15), 28.3 (C-16), 55.7 (C-17), 12.0 (C-18), 16.2 (C-19), 40.4 (C-20), 21.1 (C-21), 135.5 (C-22), 131.9 (C-23), 42.8 (C-24), 33.0 (C-25), 19.6 (C-26), 19.9 (C-27), 17.6 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致[11-12]，故鉴定化合物 **7** 为 (22*E*,24*R*)-麦角甾-5,7,22-三烯-3β-醇。

化合物 **8**：无色针晶（DMSO），mp 236～238 ℃；$[\alpha]_D^{20}$ −37°（*c* 0.1, 氯仿）；UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 207；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 424, 2 957, 2 870, 1 456, 1 379, 1 032, 968；HR-ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z* 453.333 2 $[M+Na]^+$（$C_{28}H_{46}O_3Na$，计算值 453.334 5），确定其分子式为 $C_{28}H_{46}O_3$，相对分子质量为 420，不饱和度为 6。^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) *δ*: 1.24 (2H, m, H-1), 1.45 (2H, m, H-2), 3.74 (1H, m, H-3), 1.36 (1H, m, H-4), 1.85 (1H, m, H-4), 3.60 (1H, brs, H-6), 5.06 (1H, brs, H-7), 1.94 (1H, m, H-9), 1.36 (1H, m, H-11a), 1.45 (1H, m, H-11b), 1.21 (1H, m, H-12a), 1.85 (1H, m, H-12b), 1.89 (1H, m, H-14), 2.24 (1H, m, H-15a), 2.48 (1H, m, H-15b), 1.35 (1H, m, H-16a), 1.60 (1H, m, H-16b), 1.25 (1H, m, H-17), 0.78 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s H-19), 1.97 (1 H, m, H-20), 0.97 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.15 (1H, dd, *J* = 15.3, 8.4 Hz, H-22), 5.22 (1H, dd, *J* = 15.3, 8.4 Hz, H-23), 1.86 (1H, m, H-24), 1.46 (1H, m, H-25), 0.79 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-26), 0.86 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-27), 0.97 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz, DMSO-d_6) *δ*: 21.3 (C-1), 31.2 (C-2), 66.0 (C-3), 40.2 (C-4), 74.5 (C-5), 72.1 (C-6), 119.5 (C-7), 139.6 (C-8), 42.3 (C-9), 36.6 (C-10), 32.5 (C-11), 38.9 (C-12), 43.0 (C-13), 54.2 (C-14), 22.6 (C-15), 27.8 (C-16), 55.3 (C-17), 12.1 (C-18), 17.7 (C-19), 40.0 (C-20), 21.0 (C-21), 135.4 (C-22), 131.4 (C-23), 42.0 (C-24), 32.5 (C-25), 19.8 (C-26), 19.5 (C-27), 17.3 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致[13]，结合 UV、IR、HR-ESI-TOF-MS 数据最终确定化合物 **8** 为豆甾醇-7,22-二烯-3β,5α,6α-三醇。

化合物 **9**：黄色粉末（DMSO），mp 239～242 ℃；$[\alpha]_D^{20}$ −26.5°（*c* 0.1, 氯仿）；UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 256；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 443, 2 957, 2 872, 1 674, 1 454, 1 273, 970，HR-ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z* 451.318 0 $[M+Na]^+$（$C_{28}H_{44}O_3Na$，计算值 451.318 8）确定其分子式为 $C_{28}H_{44}O_3$，相对分子质量为 428，不饱和度为 7。^{1}H-NMR (600 MHz, DMSO-d_6) *δ*: 1.25 (2H, m, H-1), 1.45 (2H, m, H-2), 3.69 (1H, m, H-3), 1.33 (1H, m, H-4), 1.86 (1H, m, H-4), 5.15 (1H, brs, H-7), 1.99 (1H, m, H-9), 1.38 (1H, m, H-11), 1.47 (1H, m, H-11), 1.20 (1H, m, H-12), 1.86 (1H, m, H-12), 1.88 (1H, m, H-14), 2.08 (1H, m, H-15), 2.43 (1H, m, H-15), 1.35 (1H, m, H-16), 1.61 (1H, m, H-16), 1.21 (1H, m, H-17), 0.52 (3H, s, H-18), 0.81 (3H, s, H-19), 1.98 (1H, m, H-20), 0.98 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-21), 5.15 (1H, dd, *J* = 15.3, 8.4 Hz, H-22), 5.23 (1H, dd, *J* = 15.3, 8.4 Hz, H-23), 1.83 (1H, m, H-24), 1.49 (1H, m, H-25), 0.77 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-26), 0.79 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-27), 0.88 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz,

DMSO-d_6) δ: 21.3 (C-1), 40.2 (C-2), 65.5 (C-3), 30.4 (C-4), 76.0, (C-5), 198.7 (C-6), 135.1 (C-7), 163.3 (C-8), 42.0 (C-9), 35.9 (C-10), 32.5 (C-11), 30.0 (C-12), 43.2 (C-13), 54.8 (C-14), 22.0 (C-15), 27.6 (C-16), 55.2 (C-17), 12.4 (C-18), 17.3 (C-19), 40.0 (C-20), 20.9 (C-21), 119.4 (C-22), 131.6 (C-23), 44.0 (C-24), 34.4 (C-25), 19.5 (C-26), 19.8 (C-27), 15.8 (C-28)。以上数据与文献报道基本一致[14-15]，故鉴定化合物 **9** 为 3β,5α-二羟基-(22*E*,24*R*)-麦角甾-7,22-二烯-6-酮。

化合物 **10**：黄色粉末（氯仿），mp 139～142 ℃；$[\alpha]_D^{20}$ +76°（*c* 0.2, 氯仿）；UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 251；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 522, 2 958, 2 872, 1 458, 1 375, 1 078, 1 033, 974, 932。HR-ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z* 441.335 2 $[2M+H]^+$（$C_{29}H_{45}O_3$，计算值 441.336 9）确定其分子式为 $C_{29}H_{44}O_3$，相对分子质量为 440，不饱和度为 8。^{1}H-NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ: 1.66 (1H, m, H-1), 2.04 (1H, m, H-1), 1.55 (1H, m, H-2), 1.90 (1H, m, H-2), 3.99 (1H, m, H-3), 1.91 (1H, m, H-4), 2.10 (1H, m, H-4), 6.27 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 6.59 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 1.36 (1H, m, H-9), 5.43 (1H, dd, *J* = 5.9, 1.6 Hz, H-11), 2.06 (1H, m, H-12), 2.24 (1H, m, H-12), 1.81 (1H, m, H-14), 1.57 (1H, m, H-15), 1.68 (1H, m, H-15), 1.29 (1H, m, H-16), 1.71 (1H, m, H-16), 1.34 (1H, m, H-17), 0.71 (3H, s, H-18), 1.09 (3H, s, H-19), 2.01 (1H, m, H-20), 1.00 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 5.14 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.9 Hz, H-22), 5.17 (1H, dd, *J* = 15.2, 7.5 Hz, H-23), 1.82 (1H, m, H-24), 1.44 (1H, m, H-25), 0.81 (3H, d, *J* = 15.4 Hz, H-26), 0.82 (3H, d, *J* = 15.4 Hz, H-27), 0.89 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, H-28)；^{13}C-NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ: 32.4 (C-1), 30.3 (C-2), 66.0 (C-3), 35.9 (C-4), 82.7 (C-5), 135.4 (C-6), 130.5 (C-7), 78.2 (C-8), 142.4 (C-9), 37.8 (C-10), 119.6 (C-11), 41.0 (C-12), 43.5 (C-13), 48.0 (C-14), 20.8 (C-15), 28.5 (C-16), 55.8 (C-17), 12.8 (C-18), 25.4 (C-19), 39.8 (C-20), 20.6 (C-21), 135.0 (C-22), 132.2 (C-23), 42.6 (C-24), 32.9 (C-25), 19.5 (C-26), 19.9 (C-27), 17.5 (C-28)。以上波谱数据与文献报道基本一致[16-17]，结合 UV、IR、HR-ESI-TOF-MS 数据最终确定化合物 **10** 为 (22*E*,24*S*)-5α,8α-环二氧-24-甲基-胆甾-6,9 (11),22-三烯 3β-醇。

化合物 **11**：淡黄色粉末（甲醇），mp 120～122 ℃；$[\alpha]_D^{20}$ +13°（*c* 0.5, 甲醇）。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 213；IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 3 391, 3 193, 2 926, 2 853, 1 648, 1 467, 1 420；HR-ESI-TOF-MS 谱给出准分子离子峰 *m*/*z* 211.116 5 $[M+Na]^+$（$C_7H_{16}N_4O_2Na$，计算值 211.117 1），确定其分子式为 $C_7H_{16}N_4O_2$，相对分子质量为 188，不饱和度为 2。^{1}H-NMR (600 MHz, CD_3OD) δ: 3.91 (1H, dd, *J* = 13.2, 5.6 Hz, H-2), 2.11 (2H, dd, *J* = 16.2, 3.0 Hz, H-3), 1.72 (2H, m, H-4), 1.95 (2H, m, H-5), 2.84 (2H, td, *J* = 13.0, 3.5 Hz, H-6)；^{13}C-NMR (150 MHz, CD_3OD) δ: 176.9 (C-1), 59.8 (C-2), 28.7 (C-3), 26.0 (C-4), 23.6 (C-5), 39.9 (C-6), 156.6 (C-6′)。以上波谱数据与文献报道基本一致[18]，结合 UV、IR、HR-ESI-TOF-MS 数据最终确定化合物 **11** 为高精氨酸。

化合物 **12**：无色针状结晶（石油醚-丙酮），不溶于冷甲醇，可溶于氯仿和热甲醇，mp 136～137 ℃。Liebermann-Burchard 反应呈污绿色，显示存在甾体母核。与 β-谷甾醇对照品共薄层检测，在 3 种溶剂系统下 TLC 分析，二者薄层行为完全一致，在紫外灯（254 nm）下观察无荧光斑点，10%硫酸乙醇溶液 105 ℃加热显紫红色斑点，香草醛-浓硫酸显紫红色，鉴定其为 β-谷甾醇[19]。

志谢：石河子大学谭勇教授鉴定药材；新疆大学分析测试中心，新疆理化所分析测试中心，新疆医科大学分析测试中心在测试时给予大力帮助。

参考文献

[1] 南京中医药大学. 中药大辞典. [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.

[2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

[3] 黄晓雪. 僵蚕的生药学及药理活性研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.

[4] Keiji H, Chikara S, Takashi I. Lateritin, a new inhibitor of acyl-CoA: cholesterol cyltransferase produce by gibbererlla lateritiun IFO 7188 [J]. *J Antibiot*, 1993, 46(12): 1782-1787.

[5] Rosecke J, Wilfried A. Constituents of the fungi *Daedalea quercina* and *Daedaleopsis confragosa* var. *tricolor* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54(8): 757-762.

[6] 李艳军, 李小霞, 姚新生. 内生真菌 *Sporormiella irregularis* 中一个新的二裂甾体 [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(9): 678-701.

[7] Lee J S, Ma C M, Park D K, *et al*. Transformation of ergosterol peroxide to cytotoxic substances by rat

intestinal bacteria (biopharmacy) [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(5): 949-954.

[8] Kwon H C, Zee S D, Lee K R. Cytotoxic Ergosterols from *Paecilomyces sp*. J300 [J]. *Arch Pharm Res*, 2002, 25(6): 851-855.

[9] Greca M D, Monaco P, Previtera L. Steroidal 5,6-epoxides from *Arum Italicum* [J]. *Nat Prod Lett*, 1993, 2(1): 27-32.

[10] Gao H, Hong K, Tang J S. New oxidized sterols from *Aspergillus awamori* and the *endo*-boat conformation adopted by the cyclohexene oxidesystem [J]. *Magn Reson Chem*, 2010, 48(1): 38-43.

[11] Liu T, Zhang L M, Li Z L. A new sulfo-xanthone from the marine-derived fungus *Penicillium sacculum* [J]. *Chem Nat Compd*, 2012, 48(5): 771-773.

[12] Shirane N, Takenaka H, Ueda K. Sterol analysis of DMI-resistant and sensitive of *Venturia Inaequalis* [J]. *Phyochemistry*, 1996, 41(5): 1301-1308.

[13] Wang Y, Wang S J, Mo S Y, *et al.* An abietane diteerpene and a sterol from fungus *Phellinus igniarius* [J]. *Chin Chem Lett*, 2006, 17(4): 481-484.

[14] Takaaki I, Yasunori Y, Masao K. Streol constituents from the fruit bodies of *Grifola frondosa* (Fr.) S. F. Gray [J]. *Chem Pharm Bull*, 1997, 45(11): 1756-1760.

[15] Valisolalao J, Luu B, Ourisson G. Steroides cytotoxiques de *polyporus Versicolor* [J]. *Tetrahedron*, 1983, 39(17): 2779-2785.

[16] Ioannoua E, Zervou M. 5α, 8α-Epidioxysterols from the gorgonian Eunicella cavolini and the ascidian Tridemnum inarmatum: Isolation and evaluation of their antiproliferative activity [J]. *Steroids*, 2009, 74(1): 73-80.

[17] Gauvin A, Smadja J, Aknin M. Isolation of bioactive 5α, 8α-epidioxy sterols from the marine sponge *Luffariella cf. variabilis* [J]. *Can J Chem*, 2000, 78: 986-992.

[18] Assmann M, Lichte E, Soest R. New bromopyrrole alkaloid from the marine sponge *Agelas wiedenmayeri* [J]. *Org Lett*, 1999, 1(3): 455-457.

[19] 秦 艳, 吴亦晴, 尹成乐, 等. 天山堇菜的化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(21): 3057-3061.