

南海海绵 *Dactylospongia elegans* 的二倍半萜类 化学成分及抗炎活性研究

康永锋^{1,2,3}, 武改芳¹, 李立¹, 甘建红^{1*}

¹上海海洋大学食品学院; ²上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心;

³食品科学与工程国家级实验教学示范中心, 上海 201306

摘要: 利用溶剂分步萃取、正相硅胶柱层析、反相 ODS 柱层析和高效液相等多种色谱技术对中国南海海绵 *Dactylospongia elegans* 的化学成分进行分离纯化, 通过波谱学手段并结合文献比对鉴定化合物的结构。从二氯甲烷萃取部位分离鉴定了 8 个化合物: dactylospene F (1)、scalarin (2)、honulactone A (3)、honulactone B (4)、honulactone E (5)、honulactone F (6)、honulactone I (7)、honulactone J (8), 其中化合物 1 为新化合物, 化合物 2~8 为首次从该海绵中分离得到。对 8 个化合物的抗炎活性进行了评价, 结果显示化合物 1、3、4 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时对脂多糖诱导的一氧化氮生成有较好的抑制作用, 抑制率分别为 65.5%、48.5%、46.0%, 且对小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 无细胞毒性。

关键词: *Dactylospongia elegans*; 二倍半萜; 抗炎活性; NO 产生

中图分类号: R284; R915

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)8-1357-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.8.008

Study on the sesterterpenoids of *Dactylospongia elegans* from the South China Sea and their anti-inflammatory activities

KANG Yong-feng^{1,2,3}, WU Gai-fang¹, LI Li¹, GAN Jian-hong^{1*}

¹School of Food Science, Shanghai Ocean University; ²Shanghai Engineering Research

Center of Aquatic-Product Processing & Preservation;

³National Experimental Teaching Demonstration Center for Food Science and Engineering, Shanghai 201306, China

Abstract: Solvent extraction, silica column chromatography, ODS column chromatography and HPLC methods were used to isolate and refine compounds from the marine sponge *Dactylospongia elegans* from the South China Sea. The chemical structures were identified by spectroscopic analysis and comparison with the literature. From the CH_2Cl_2 extract of *D. elegans*, eight compounds were isolated and determined as dactylospene F (1), scalarin (2), honulactone A (3), honulactone B (4), honulactone E (5), honulactone F (6), honulactone I (7), honulactone J (8). Compound 1 was a new compound and compounds 2-8 were isolated from *D. elegans* for the first time. All of the isolates were evaluated for their anti-inflammatory activity. The results showed that compounds 1, 3 and 4 exhibited inhibitory effects on nitric oxide production induced by lipopolysaccharide at 10 $\mu\text{mol/L}$, with inhibition rate of 65.5%, 48.5% and 46.0%, respectively, and showed no cytotoxicity to RAW 264.7 in mouse macrophages.

Key words: *Dactylospongia elegans*; sesterterpenoid; anti-inflammatory activities; NO production

海洋的高压、高盐、缺氧和少光等特殊的生态环境, 使得海洋生物能够拥有独特的代谢机制, 从而产生结构新颖的次级代谢产物。海绵是海洋的第二大

生物, 被认为是海洋天然产物最丰富的来源^[1,2]。*Dactylospongia* 属海绵拥有丰富的具有生物活性的次级代谢产物, 文献报道的该属海绵的化学成分主要有倍半萜醌/氢醌、倍半萜酸类、二萜、类固醇、二倍半萜类以及其他类型的化合物^[3], 其中大部分为倍半萜醌/氢醌。这些代谢产物显示出一系列的生物活性, 如抗肿瘤、抗血管生成、抗菌^[4]、抗炎^[5]、抗

收稿日期: 2023-01-31 接受日期: 2023-05-15

基金项目: 上海市“浦江人才”计划项目(2020PJ0082); 上海市“科技创新行动计划”自然科学基金面上项目(20ZR1470600)

* 通信作者 Tel: 86-015692165885; E-mail: jhgan@shou.edu.cn

锥虫、抗疟原虫^[6]和抗氧化^[7]等活性。目前,从 *D. elegans* 海绵中分离得到的二倍半萜类化合物相对较少,仅有少量的文献进行了报道,如 Yu 等^[8]从 *D. elegans* 海绵中分离得到了 5 个新的二倍半萜类化合物。

本文对胃甲海绵 *D. elegans* 的化学成分进行了一系列的研究,致力于发现结构新颖、具有生物活性的化合物,丰富海洋来源的天然产物,同时发现具有潜在药用价值的先导化合物。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Waters 1525/2996 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Bruker AV-600 型核磁共振仪、Bruker AVANCE NEO 400 兆核磁共振谱仪(美国 Bruker 公司); TLC 高效薄层层析板(烟台江友硅胶开发有限公司); 甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Promptar 公司); 二氯甲烷、甲烷、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇(分析纯,上海化学试剂公司); 氘代试剂(上海思域化工科技有限公司); 显色剂用 10% 硫酸香兰素溶液; 小鼠巨噬细胞 RAW 264.7(中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心); 胎牛血清(美国 Hyclone 公司,批号:SH30406.05); DMEM 培养基(美国 Gibco 公司,批号:812557); 饮用纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司); 地塞米松(北京索莱宝科技有限公司,纯度:≥98%,批号:D8040)。

1.2 样品来源

胃甲海绵 *D. elegans* 样品于 2020 年 3 月采自中国南海永兴岛,种属由上海交通大学仁济医院林厚文教授鉴定。样本(编号 D20-3)存放于上海海洋大学食品学院。

1.3 实验方法

1.3.1 提取分离

将海绵(*D. elegans*)切碎后,用乙醇反复浸泡、超声提取,直到薄层色谱法检验完全提取为止,合并提取液,减压浓缩得到粗浸膏;将粗浸膏混悬于 1.5 L 水中,用等体积二氯甲烷萃取 4 次;减压浓缩得到总浸膏;将其混悬分散于 90% 的甲醇溶液中,用等体积的石油醚萃取 3 次,浓缩萃取液得到石油醚部位浸膏;再加水将混悬液的甲醇浓度调整至 60%,用等体积的二氯甲烷萃取 3 次,浓缩萃取液得到二氯甲烷部位浸膏。

将二氯甲烷部位浸膏进行减压硅胶柱色谱,用石油醚-乙酸乙酯(100:1 → 1:1, MeOH)进行梯度

洗脱,根据 TLC 显色合并相似流份得到 7 个组分 A ~ G。对组分 C 进行反相 ODS 色谱柱色谱,甲醇-水(40:60 → 100:0)梯度洗脱,根据 TLC 显色合并相似流份得到 8 个组分 D1 ~ D8,对组分 D3 进行正相硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(100:1 → 1:1)梯度洗脱,根据 TLC 显色合并相似流份得到 5 个组分(D3a ~ D3e)。从 D3c 组分以甲醇-水(90:10)为洗脱体系经高效液相色谱纯化得到化合物 2(2.1 mg, $t_R = 39$ min)。对组分 D4 进行正相硅胶柱色谱,石油醚-乙酸乙酯(100:1 → 1:1)梯度洗脱,根据 TLC 显色合并相似流份得到 4 个组分(D4a ~ D4d);从 D4b 组分以乙腈-水(75:25, 0.1% 甲酸)为洗脱体系经高效液相色谱纯化得到化合物 1(2.0 mg, $t_R = 25$ min),从 D4c 组分以甲醇-水(90:10, 0.1% 甲酸)为洗脱体系经高效液相色谱纯化得到化合物 3(2.3 mg, $t_R = 40$ min)和 4(1.7 mg, $t_R = 46$ min)。对组分 E 进行正相硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(100:1 → 1:1)梯度洗脱,根据 TLC 显色合并相似流份得到 7 个组分(E1 ~ E7)。从 E4 组分以甲醇-水(87:13, 0.1% 甲酸)为洗脱体系经高效液相色谱纯化得到化合物 5(2.2 mg, $t_R = 31$ min)和 7(1.8 mg, $t_R = 49$ min)以及组分 E4a;组分 E4a 以乙腈-水(75:25, 0.1% 甲酸)体系经过 HPLC 二次纯化得到化合物 6(2.1 mg, $t_R = 47$ min)组分 E5 以甲醇-水(85:15, 0.1% 甲酸)为洗脱体系经高效液相色谱得到化合物 8(3.2 mg, $t_R = 52$ min)。

1.3.2 生物活性测定

1.3.2.1 细胞培养

将小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 细胞用含 10% 新生胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 完全培养基培养,37 °C, 5% CO₂ 培养箱培养至细胞覆盖率达 85% 以上时传代,生长状态良好的细胞用于实验研究。

1.3.2.2 NO 生成抑制率测定

采用 Griess 法^[9]检测化合物对脂多糖 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 细胞 NO 释放的抑制作用。对数生长期的 RAW 264.7 细胞以 5×10^4 个/孔的密度接种到 96 孔板中,每孔 100 μL,并设 LPS 组、空白对照组和给药组。待细胞贴壁后,LPS 组加入 LPS(1 μg/mL),空白对照组每孔加入 0.1 μL 的 DMSO,给药组加入 10 μmol/L 单体化合物,37 °C 孵育 1 h 后,加入 LPS(1 μg/mL),继续培养 24 h;收取

100 μL 细胞上清液,与 100 μL Griess 试剂等体积混合,室温孵育 10 min,记录各孔在 540 nm 处的吸光度值(OD 值)。按照公式:抑制率 = $(OD_{\text{样品}} - OD_{\text{空白}}) / (OD_{\text{LPS}} - OD_{\text{空白}}) \times 100\%$,计算 NO 生成抑制率。

1.3.2.3 细胞活力的检测

采用 CCK-8 法^[9]测定化合物对细胞增殖的影响。收取 100 μL 细胞上清液用于测定 NO 的释放后,将 10 μL 的 CCK8 溶液加入每个孔,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h 后,使用酶标仪在 450 nm 波长处记录每个孔的吸光度。

表 1 化合物 1 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据(400 和 100 MHz, CDCl_3)

Table 1 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR data for compound 1 (400 and 100 MHz, CDCl_3)

No.	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	No.	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)
1	118.6, d	5.42, t(5.4)	14	116.9, d	5.79, s
2	23.1, t	2.00, m	15	171.9, s	
3	29.5, t	1.20, m; 1.37, m	16	99.5, d	5.92, s
4	33.9, s		16-OH		4.68, br s
5	42.4, d	1.60, m	17	24.1, q	0.82, s
6	30.0, t	1.09, m; 1.80, m	18	16.6, q	0.86, d(6.8)
7	31.5, t	1.44, m; 1.55, m	19	23.1, q	1.03, s
8	44.5, d	1.32, m	20	39.2, t	1.12, m; 1.30, m
9	42.8, s		21	22.4, t	1.87, m
10	145.1, s		22	124.9, d	5.01, t(6.4)
11	28.2, t	1.34, m; 1.90, m	23	131.8, s	
12	22.6, t	2.16, m	24	17.9, q	1.56, s
13	171.5, s		25	26.1, q	1.65, s

^1H NMR 谱高场区域显示了分子中 4 个甲基单峰 [δ_{H} 0.82 (3H, s, H-17), 1.03 (3H, s, H-19), 1.56 (3H, s, H-24), 1.65 (3H, s, H-25)]、1 个甲基双峰 [δ_{H} 0.86 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-18)] 以及 1 个活泼氢 [δ_{H} 4.68 (1H, br s, 16-OH)] 信号的存在;低场区域显示 3 个烯烃质子 [δ_{H} 5.42 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-1), 5.79 (1H, s, H-14), 5.01 (1H, t, $J = 6.4$ Hz, H-22)] 信号。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱中共显示有 25 个碳信号,包括 6 个季碳,6 个次甲基碳,8 个亚甲基碳以及 5 个甲基碳,其中包括 1 个羰基碳(δ_{C} 171.9), 3 个烯烃季碳(δ_{C} 171.5, 145.1, 131.8), 3 个烯烃次甲基碳(δ_{C} 124.9, 118.6, 116.9), 1 个连氧次甲基碳(δ_{C} 99.5)。1 个羰基和 3 个双键占据了 4 个不饱和度,提示分子中三环结构的存在。

2 实验结果

2.1 化合物的结构鉴定

化合物 1 淡红色油状物 (MeOH), $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 104.4$ (c 0.30, MeOH), UV (MeOH) ($\log \epsilon$) λ_{max} 224 (4.64); IR (KBr) ν_{max} 3 369, 2 962, 2 921, 2 858, 1 743, 1 648, 1 451, 1 377, 1 337, 1 134, 737, 647, 611 cm^{-1} ; HR-EI-MS: m/z 404.3155 [$\text{M} + \text{NH}_4$] $^{+}$ (calcd for $\text{C}_{25}\text{H}_{42}\text{NO}_3$, 404.3159), 结合 ^1H NMR、 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱数据确定其分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{38}\text{O}_3$, 计算其不饱和度为 7。IR 谱显示了羟基(3 369 cm^{-1})和酯羰基(1 743 cm^{-1})的强吸收峰。核磁数据见表 1。

查阅文献^[8]发现,化合物 1 与已知化合物 dactylospene C 的核磁数据基本一致,不同的是与化合物 dactylospene C 相比,化合物 1 缺少了一个碳信号(δ_{C} 56.5)和一个氢信号 [δ_{H} 3.50 (3H, s, 16-OCH₃)], 同时 C-16 的碳谱化学位移值由化合物 dactylospene C 中的 δ_{C} 104.4 向高场位移至化合物 1 中的 δ_{C} 99.5, C-16 的氢谱化学位移值由化合物 dactylospene C 中的 δ_{H} 5.61 (1H, s, H-16) 向低场位移至化合物 1 中的 δ_{H} 5.92 (1H, s, H-16), 推测可能是由于 C-16 位的取代基不同导致的。结合化合物 1 的 HR-EI-MS、 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR, 确定化合物 1 的 C-16 位的取代基是羟基而不是化合物 dactylospene C 中的甲氧基。同时,一组碳信号 δ_{C} 171.9 (C-15), 171.5 (C-13), 116.9 (C-14) 以及 99.5 (C-16), 以及

H-16 与 C-13/C-14/C-15, H-14 与 C-13/C-15/C-16 的 HMBC 相关可以进一步证实 α, β -不饱和- γ -羟基- γ -内酯结构单元的存在。由上述信息, 最终确定了化合物 **1** 的平面结构, 如图 1 所示。

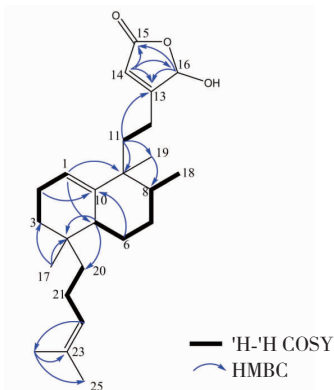


图 1 化合物 **1** 的 ^1H - ^1H COSY 和关键 HMBC 相关

Fig. 1 ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound **1**

化合物 **1** 的相对构型是通过 NOESY 谱确定的 (见图 2)。在 NOESY 谱中, H-5 与 H₃-18、H-20a 有 NOESY 相关, 可知这些氢是处于同一平面。H-8 与 H₃-19 有 NOESY 相关, 表明这些氢是处于另一平面的。化合物 **1** 的绝对构型是通过 CD 谱确定的。化合物 **1** 在 205 nm 左右处正 Cotton 效应, 在 250 nm 左右处正 Cotton 效应 (如图 3 所示), 与已知化合物

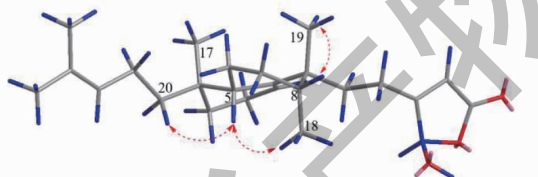


图 2 化合物 **1** 的关键 NOESY 相关

Fig. 2 Key NOESY correlations of compound **1**

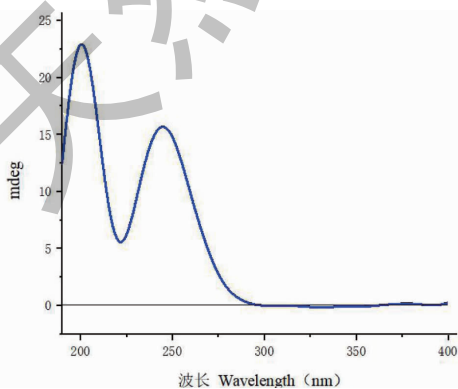


图 3 化合物 **1** 的 CD 谱图

Fig. 3 The CD spectrum of compound **1**

dactylospene C 一致, 因此确定化合物 **1** 的绝对构型为 $4R, 5S, 8R, 9R, 16S$ 。化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trcw.ac.cn)。

化合物 2 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 445.29 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{40}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.80 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-16), 5.67 (d, $J = 5.0$ Hz, H-25), 4.90 (1H, br s, H-12), 2.09 (3H, s, CH_3CO), 0.93 (3H, s, H-21), 0.85 (3H, s, H-22), 0.84 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, s, H-20), 0.80 (3H, s, H-23); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.6 (C-1), 18.0 (C-2), 41.4 (C-3), 33.2 (C-4), 56.4 (C-5), 18.5 (C-6), 41.9 (C-7), 37.9 (C-8), 52.5 (C-9), 37.3 (C-10), 22.3 (C-11), 74.6 (C-12), 36.9 (C-13), 49.9 (C-14), 24.1 (C-15), 135.3 (C-16), 128.1 (C-17), 50.8 (C-18), 33.3 (C-19), 21.4 (C-20), 16.3 (C-21), 16.0 (C-22), 15.1 (C-23), 167.9 (C-24), 98.9 (C-25), 171.1 (CH_3CO), 21.4 (CH_3CO)。以上数据与文献^[10]报道一致, 鉴定化合物 **2** 为 scalarin。

化合物 3 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 521.34 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.60 (1H, br t, $J = 2.4$ Hz, H-12), 4.77 (1H, dd, $J = 13.0, 6.6$ Hz, H-24), 4.09 (1H, m, H-3'), 1.35 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 1.18 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-4'), 1.17 (3H, s, H-23), 1.09 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-27), 0.87 (3H, s, H-21), 0.79 (3H, s, H-22), 0.58 (1H, dd, $J = 8.6, 4.5$ Hz, H-19b), 0.47 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, H-19a); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.9 (C-1), 21.6 (C-2), 33.5 (C-3), 22.9 (C-4), 50.5 (C-5), 17.9 (C-6), 40.5 (C-7), 37.9 (C-8), 51.6 (C-9), 37.7 (C-10), 21.6 (C-11), 74.9 (C-12), 38.6 (C-13), 51.4 (C-14), 17.0 (C-15), 24.4 (C-16), 164.4 (C-17), 132.9 (C-18), 13.8 (C-19), 13.6 (C-20), 17.1 (C-21), 13.8 (C-22), 21.3 (C-23), 77.9 (C-24), 171.1 (C-25), 18.6 (C-26), 13.2 (C-27), 171.7 (C-1'), 41.7 (C-2'), 64.9 (C-3'), 22.5 (C-4')。以上数据与文献^[11]报道一致, 鉴定化合物 **3** 为 honulactone A。

化合物 4 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 521.34 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{31}\text{H}_{46}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.59 (1H, br t, $J =$

2.4 Hz, H-12), 4.77 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-24), 4.10 (1H, m, H-3'), 1.35 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-26), 1.18 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-4'), 1.17 (3H, s, H-23), 1.10 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-27), 0.87 (3H, s, H-21), 0.79 (3H, s, H-22), 0.58 (1H, dd, $J = 8.6, 4.5$ Hz, H-19b), 0.48 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, H-19a); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.8 (C-1), 21.2 (C-2), 33.4 (C-3), 22.6 (C-4), 50.2 (C-5), 17.5 (C-6), 40.3 (C-7), 37.8 (C-8), 51.4 (C-9), 37.5 (C-10), 21.3 (C-11), 74.7 (C-12), 38.5 (C-13), 51.5 (C-14), 16.6 (C-15), 24.3 (C-16), 164.1 (C-17), 132.8 (C-18), 13.7 (C-19), 13.4 (C-20), 17.0 (C-21), 13.9 (C-22), 21.4 (C-23), 78.1 (C-24), 171.3 (C-25), 18.6 (C-26), 13.0 (C-27), 171.1 (C-1'), 43.4 (C-2'), 64.2 (C-3'), 22.5 (C-4')。以上数据与文献^[12]报道一致, 鉴定化合物 4 为 honulactone B。

化合物 5 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 535.32 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.59 (1H, br t, $J = 2.6$ Hz, H-12), 4.78 (1H, dd, $J = 13.2, 6.4$ Hz, H-24), 4.10 (1H, m, H-3'), 3.06 (1H, br s, HO-3'), 1.37 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 1.17 (3H, s, H-23), 1.08 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-27), 0.93 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-5'), 0.88 (3H, s, H-21), 0.79 (3H, s, H-22), 0.58 (1H, dd, $J = 8.8, 4.5$ Hz, H-19b), 0.47 (1H, dd, $J = 4.5, 5.6$ Hz, H-19a); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.8 (C-1), 21.1 (C-2), 32.9 (C-3), 22.7 (C-4), 49.9 (C-5), 17.5 (C-6), 40.2 (C-7), 37.7 (C-8), 51.4 (C-9), 37.2 (C-10), 21.1 (C-11), 74.6 (C-12), 38.5 (C-13), 51.2 (C-14), 16.8 (C-15), 24.1 (C-16), 164.2 (C-17), 132.8 (C-18), 13.6 (C-19), 13.4 (C-20), 16.9 (C-21), 13.8 (C-22), 21.5 (C-23), 77.9 (C-24), 171.8 (C-25), 18.8 (C-26), 13.2 (C-27), 172.1 (C-1'), 41.7 (C-2'), 64.5 (C-3'), 22.3 (C-4'), 10.1 (C-5')。以上数据与文献^[12]报道一致, 鉴定化合物 5 为 honulactone E。

化合物 6 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 535.32 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.59 (1H, br t, $J = 2.6$ Hz, H-12), 4.77 (1H, q, $J = 7.4$ Hz, H-24), 3.98 (1H, m, H-3'), 2.99 (1H, s, HO-3'), 1.36 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-26), 1.18 (3H, s, H-23), 1.08 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-27), 0.93 (3H, t, $J = 7.5$

Hz, H-5'), 0.88 (3H, s, H-21), 0.79 (3H, s, H-22), 0.57 (1H, dd, $J = 8.8, 4.1$ Hz, H-19), -0.49 (1H, t, $J = 5.2$ Hz, H-19); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 39.8 (C-1), 21.1 (C-2), 33.1 (C-3), 22.6 (C-4), 50.2 (C-5), 17.4 (C-6), 39.9 (C-7), 37.9 (C-8), 51.4 (C-9), 37.2 (C-10), 21.0 (C-11), 74.7 (C-12), 38.5 (C-13), 51.4 (C-14), 16.5 (C-15), 24.3 (C-16), 164.2 (C-17), 132.8 (C-18), 13.7 (C-19), 13.5 (C-20), 16.8 (C-21), 13.9 (C-22), 21.4 (C-23), 78.1 (C-24), 171.7 (C-25), 18.7 (C-26), 13.2 (C-27), 172.3 (C-1'), 41.7 (C-2'), 64.4 (C-3'), 22.3 (C-4'), 10.1 (C-5')。以上数据与文献^[12]报道一致, 鉴定化合物 6 为 honulactone F。

化合物 7 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 573.38 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.61 (1H, br t, $J = 3.2$ Hz, H-12), 5.35 (1H, q, $J = 7.2$ Hz, H-20), 4.76 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-24), 3.79 (1H, m, H-3'), 2.95 (1H, s, HO-3'), 2.04 (3H, s, CH_3CO), 1.36 (3H, d, $J = 8.6$ Hz, H-26), 1.18 (3H, s, H-23), 1.07 (3H, d, $J = 8.4$ Hz, H-27), 0.95 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, t, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 0.87 (3H, s, H-21), 0.86 (3H, s, H-22); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 40.2 (C-1), 17.7 (C-2), 38.9 (C-3), 39.1 (C-4), 59.0 (C-5), 20.1 (C-6), 42.2 (C-7), 37.5 (C-8), 53.6 (C-9), 37.3 (C-10), 21.0 (C-11), 74.4 (C-12), 38.4 (C-13), 50.9 (C-14), 16.9 (C-15), 24.0 (C-16), 163.8 (C-17), 132.5 (C-18), 23.0 (C-19), 73.0 (C-20), 16.7 (C-21), 16.4 (C-22), 21.2 (C-23), 77.8 (C-24), 171.5 (C-25), 18.4 (C-26), 15.9 (C-27), 170.1 (CH_3CO), 21.9 (CH_3CO), 172.1 (C-1'), 41.7 (C-2'), 69.3 (C-3'), 29.2 (C-4'), 10.0 (C-5')。以上数据与文献^[12]报道一致, 鉴定化合物 7 为 honulactone I。

化合物 8 白色粉末, 易溶于二氯甲烷; ESI-MS: m/z 573.38 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{34}\text{H}_{53}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.58 (1H, br t, $J = 3.4$ Hz, H-12), 5.36 (1H, q, $J = 7.4$ Hz, H-20), 4.77 (1H, q, $J = 8.0$ Hz, H-24), 3.79 (1H, m, H-3'), 2.95 (1H, s, HO-3'), 2.03 (3H, s, CH_3CO), 1.37 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-26), 1.19 (3H, s, H-23), 1.08 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-27), 0.95 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, t, $J = 11.4$ Hz, H-5'), 0.86 (3H, s,

H-21), 0.85 (3H, s, H-22); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 40.3 (C-1), 17.7 (C-2), 39.0 (C-3), 39.1 (C-4), 59.0 (C-5), 20.0 (C-6), 42.3 (C-7), 37.5 (C-8), 53.6 (C-9), 37.3 (C-10), 21.0 (C-11), 74.4 (C-12), 38.4 (C-13), 50.9 (C-14), 16.8 (C-15), 24.0 (C-16), 163.8 (C-17), 132.5 (C-18), 23.1 (C-19), 73.0 (C-20), 16.7 (C-21), 16.4 (C-22), 21.3 (C-

23), 78.1 (C-24), 171.4 (C-25), 18.5 (C-26), 15.9 (C-27), 170.2 (CH_3CO), 21.9 (CH_3CO), 171.9 (C-1'), 41.6 (C-2'), 69.4 (C-3'), 29.1 (C-4'), 10.0 (C-5'). 以上数据与文献^[12]报道一致, 鉴定化合物 **8** 为 honulactone J。

化合物 **1** ~ **8** 的结构式见图 4。

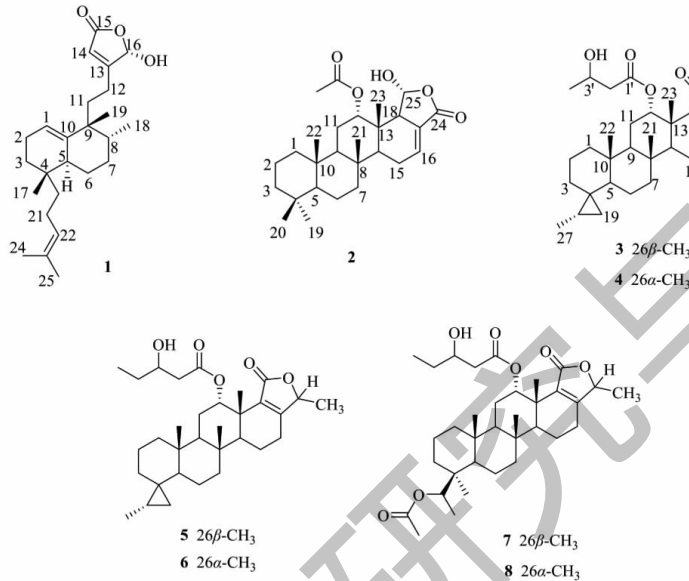


图 4 化合物 **1** ~ **8** 的结构式

Fig. 4 Structures of compounds **1-8**

2.2 生物活性测试

测定了化合物对脂多糖 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 细胞 NO 释放的抑制作用, 结果显示, 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 化合物 **1** 具有显著的抗炎活性, 抑制率为 65.5%, 化合物 **3** 和 **4** 具有较好的抗炎活性, 抑制率为 48.5% 和 46.0%, 且化合物 **1**、**3** 和 **4** 对小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 无细胞毒性, 抑制率分别为 0.8%、4.0% 和 1.8%。其他化合物均为无活性。

3 结论

本文对中国南海永兴岛的海绵 *D. elegans* 的化学成分进行了研究, 分离得到 8 个该属海绵罕见的二倍半萜类化合物, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2** ~ **8** 为首次从该海绵中分离得到。化合物 **2** ~ **8** 为 Scalarane 型二倍半萜类化合物, 文献报道该类化合物主要从 *Hyatella* sp.、*Phyllospongia* sp.、*Dysidea* sp.、*Lendenfeldia* sp. 等海绵中分离得到^[13], 首次从 *D. elegans* 海绵分离得到的 Scalarane 型二倍半萜可

能与这几种海绵的食物链或者共寄生微生物有关。测定了 8 种化合物对脂多糖 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 释放 NO 的抑制率, 为了避免在抗炎评价过程中使用被试验化合物的对 RAW 264.7 细胞的细胞毒性, 同时进行了 CCK-8 检测, 结果显示, 化合物 **1**、**3**、**4** 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 时具有较好的 NO 抑制作用, 抑制率分别为 65.5%、48.5% 和 46.0%, 且对 RAW 264.7 细胞无细胞毒性。这些化合物可能在抗炎治疗中具有潜在的价值, 但参与抗炎作用的具体机制有待进一步研究。

参考文献

- 1 Liu ZH, Zhou CY. Review on pharmacological active components of *Plakortis simplex* sponge[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 322-325.
- 2 Andersen RJ. Sponging off nature for new drug leads[J]. Biochem Pharmacol, 2017, 139: 3-14.
- 3 Ibrahim SRM, Fadil SA, Fadil HA, et al. *Dactylospongia elegans*-a promising drug source; metabolites, bioactivities, bio-

- synthesis, synthesis, and structural-activity relationship [J]. Mar Drugs, 2022, 20: 221-258.
- 4 Li J, Yang F, Wang Z, et al. Unusual anti-inflammatory meroterpenoids from the marine sponge *Dactylosporgia* sp. [J]. Org Biomol Chem, 2018, 16: 6773-6782.
 - 5 Li J, Wu W, Yang F, et al. Popolohuanones G-I, dimeric sesquiterpene quinones with IL-6 inhibitory activity from the marine sponge *Dactylosporgia elegans* [J]. Chem Biodivers, 2018, 15: e1800078.
 - 6 Goclik E, K'nig GM, Wright AD, et al. Pelorol from the tropical marine sponge *Dactylosporgia elegans* [J]. J Nat Prod, 2000, 63: 1150-1152.
 - 7 Hagiwara K, Garcia Hernandez JE, Harper MK, et al. Puupehenol, a potent antioxidant antimicrobial meroterpenoid from a Hawaiian deep-water *Dactylosporgia* sp. sponge [J]. J Nat Prod, 2015, 78: 325-329.
 - 8 Yu HB, Gu BB, Iwasaki A, et al. Dactylospenes A-E, sesterterpenes from the marine sponge *Dactylosporgia elegans* [J]. Mar Drugs, 2020, 18: 490-501.
 - 9 PLA Navy Specialty Cares Medical Center, China. Sesquiterpene compound and application thereof in preparing anti-inflammatory medicament: CN202011013888. 4 [P]. 2021-01-01.
 - 10 Yang XX, Shao ZY, Zhang XQ. Sesterterpenes from the sponge *Dysidea* sp. [J]. Zeitschrift Für Naturforschung B, 2010, 65: 625-627.
 - 11 Lang JH, Yang F, Gan JH, et al. Chemical constituents from Xisha soft coral *Lobophytum* sp. [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 2999-3003.
 - 12 Jiménez JI, Yoshida WY, Scheuer PJ, et al. Honulactones: new bishomoscalarane sesterterpenes from the Indonesian sponge *Strepsichordaia aliena* [J]. J Org Chem, 2000, 65: 6837-6840.
 - 13 Yu HB, Chen HY, Duan S, et al. Bioactive scalarane-type sesterterpenoids from marine sources [J]. Chem Biodivers, 2022, 19: e202200049.
-
- (上接第 1337 页)
- 15 Huang Z, Mao QQ. Protective effects of total amino acids from *Tetrastigma* Radix on acute hepatic injury induced by CCl₄ [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药理学), 2007, 3: 190-192.
 - 16 Ding XJ, Xiong L, Zhou QM, et al. Advances in studies on chemical structure and pharmacological activities of natural nucleosides [J]. J Chengdu Univ Tradit Chin Med (成都中医药大学学报), 2018, 41: 102-108.
 - 17 Fan SM, Xie XY, Ceng FT, et al. Identification of chemical components and determination of flavonoids in *Tetrastigma hemsleyanum* leaves [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2017, 37: 1481-1488.
 - 18 Zi HR. Study on Quality Evaluation of *Tetrastigma hemsleyanum* based on multi-dimensional fingerprint and saccharide mapping [D]. Hangzhou: Zhejiang Agriculture and Forestry University (浙江农林大学), 2020.
 - 19 Zhu JL, Zhang XQ, Zhang NN, et al. Simultaneous determination of six flavonoids in *Tetrastigma* Radix from different origins by HPLC [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2020, 43: 1431-1433.
 - 20 Zhang YJ, Wu X, Luo YY, et al. Analysis of volatile compounds by GC-MS in roots and leaves of *Tetrastigma hemsleyanum* [J]. Ginseng Res (人参研究), 2020, 32: 22-26.
 - 21 Xu W, Fu ZQ, Lin J, et al. Qualitative and quantitative study of main components of *Tetrastigma hemsleyanum* Based on HPLC-Q-TOF-MS and UPLC-QQQ-MS [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2014, 39: 4365-4372.
 - 22 Zhou GF, Lu GY. Comparative studies on scavenging DPPH free radicals activity of flavone C-glycosides from different parts of *Dendrobium officinale* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37: 1536-1540.