

长春花中生物碱类化学成分研究

覃 锋^{1,2}, 王凡凡^{2#}, 吴积文², 李嘉欣², 姜月霞^{3*}, 王恒山^{1*}

1. 广西师范大学化学与药学院 药用资源化学与药物分子工程教育部重点实验室, 广西 桂林 541004

2. 玉林师范学院化学与食品科学学院 广西农产资源化学与生物技术重点实验室, 广西 玉林 537700

3. 海南医科大学药学院, 海南 海口 571199

摘 要: 目的 研究长春花 *Catharanthus roseus* 全草的化学成分及其抗肿瘤活性。方法 运用硅胶柱色谱、ODS 柱色谱及 HPLC 等手段分离纯化化合物, 并通过 NMR 和 HR-ESI-MS 等谱学技术进行结构鉴定; 同时利用 CCK-8 法评估其体外抗肿瘤活性。结果 从长春花 95%乙醇提取物中得到 6 个生物碱, 分别鉴定为长春花碱 A (1a)、2,3,3a,5-四氢-1H-苯并[d]吡咯并[2,1-b][1,3]恶嗪-1-酮 (1b)、β-咔啉-1-羧酸 (2)、1-乙酰基-β-咔啉 (3)、β-咔啉生物碱 (4)、2-(2-甲基-3-烯-2-基)-1H-吲哚-3-甲醛 (5)。结论 化合物 1 为 1 对对映异构体, 其中化合物 1a 为新化合物, 命名为长春花碱 A; 化合物 1b、2~5 均为首次从该长春花属中分离得到。生物碱 1b 对 T24 细胞表现出一定抑制活性。

关键词: 长春花; 长春花属; 生物碱; 对映异构体; 抗肿瘤; 长春花碱 A; 2,3,3a,5-四氢-1H-苯并[d]吡咯并[2,1-b][1,3]恶嗪-1-酮; 1-乙酰基-β-咔啉

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)22-8077-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.22.002

Study on alkaloids from *Catharanthus roseus*

QIN Feng^{1,2}, WANG Fanfan², WU Jiwen², LI Jiaxin², JIANG Yuexia³, WANG Hengshan¹

1. Key Laboratory for Chemistry and Molecular Engineering of Medicinal Resources (Ministry of Education of China), College of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China

2. Guangxi Key Laboratory of Agricultural Resources Chemistry and Biotechnology, College of Chemistry and Food Science, Yulin Normal University, Guilin 537000, China

3. College of Pharmacy, Hainan Medical University, Haikou 571199, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of the whole herb of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don and evaluate their antitumor activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel column chromatography, ODS column chromatography, and HPLC, and their structures were elucidated by NMR and HR-ESI-MS spectroscopic techniques. The antitumor activities were assessed *in vitro* using the CCK-8 assay. **Results** Six alkaloids were obtained from the 95% ethanol extract of *C. roseus* and identified as catharosine A (1a), 2,3,3a,5-tetrahydro-1H-benzo[d]pyrrolo[2,1-b][1,3]oxazin-1-one (1b), β-carboline-1-carboxylic acid (2), 1-acetyl-β-carboline (3), β-carboline alkaloid (4), 2-(2-methyl-3-en-2-yl)-1H-indole-3-carbaldehyde (5). **Conclusion** Compound 1 was determined to be a pair of enantiomers, of which 1a was a new compound and named Catharosine A, while compounds 1b, 2-5 were isolated from the genus *Catharanthus* for the first time. Moreover, compound 1b exhibited certain inhibitory activity against T24 cells.

Key words: *Catharanthus roseus* (L.) G. Don; *Catharanthus*; alkaloids; enantiomers; antitumor activity; catharosine A; 2,3,3a,5-tetrahydro-1H-benzo[d]pyrrolo[2,1-b][1,3]oxazin-1-one; 1-acetyl-β-carboline

收稿日期: 2025-09-01

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2024GXNSFBA010005, 2025GXNSFDA069055); 国家自然科学基金项目 (22467005); 广西青年科技人才工程资助 (2025YESSGX201); 广西第一批青苗人才项目 (2025QMZK03)

作者简介: 覃 锋 (1993—), 男, 博士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: qinf1114@163.com

#共同第一作者: 王凡凡 (1995—), 女, 硕士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: fanfanwang2020@163.com

*通信作者: 王恒山, 男, 博士。E-mail: whengshan@163.com

姜月霞, 女, 实验师。E-mail: yangjiangyx@126.com

长春花 *Catharanthus roseus* (L.) G. Don 为夹竹桃科 (Apocynaceae) 长春花属植物, 民间俗称日日草、四时花, 原产非洲东海岸, 现广泛栽培于热带、亚热带地区, 在我国华东、中南及西南均有分布^[1-2]。其性寒、味苦, 具解毒抗癌、降血压、降血糖及镇静安神等功效, 民间常用于糖尿病、高血压、腹泻及肿瘤等疾病治疗^[3]。现代植物化学与药理学研究表明, 长春花化学成分复杂, 其中单萜吲哚和双萜吲哚生物碱最具代表性, 如长春新碱和长春碱可抑制微管蛋白聚合, 阻断有丝分裂, 临床广泛用于抗肿瘤治疗^[4]。此外, 其生物碱还表现出抗炎、调血脂、降血糖及神经保护等多种药理活性^[5]。

基于其成分多样性和显著药用价值, 本研究对长春花全草进行系统分离纯化, 采用硅胶、ODS (C₁₈) 及制备型 HPLC 等分离技术, 结合 NMR、MS 等波谱手段, 分离获得 6 个化合物 (图 1), 分别鉴定为长春花碱 A (catharosine A, **1a**)、2,3,3a,5-四氢-1*H*-苯并[*d*]吡咯并[2,1-*b*][1,3]恶嗪-1-酮 (2,3,3a,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*d*]pyrrolo[2,1-*b*][1,3] oxazin-1-one, **1b**)、β-咔啉-1-羧酸 (β-carboline-1-carboxylic acid, **2**)、1-乙酰基-β-咔啉 (1-acetyl-β-carboline, **3**)、β-咔啉生物碱 (β-carboline alkaloid, **4**)、2-(2-甲基-3-烯-2-基)-1*H*-吲哚-3-甲醛 [2-(2-methyl-3-en-2-yl)-1*H*-indole-3-carbaldehyde, **5**]。化合物 **1** 为 1 对对映异构体, 其中, 化合物 **1a** 为新化合物, 命名为长春花碱 A, 化合物 **1b**、**2**~**5** 均为首次从该长春花属中分离得到。活性测试结果表明, 化合物 **1b** 具有一定的抗肿瘤活性。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE NEO-600 NMR 核磁共振波谱

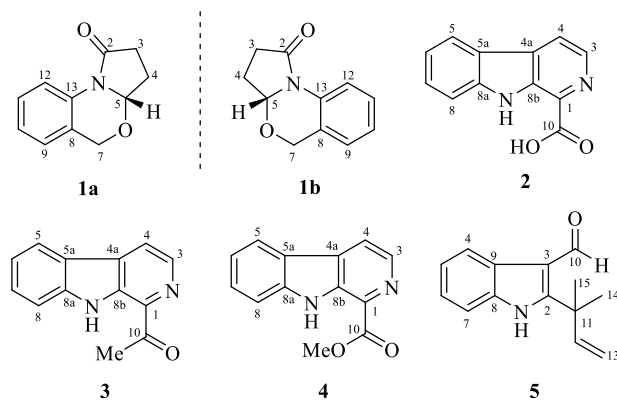


图 1 化合物 **1a**/**1b**~**5** 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1a**/**1b**—**5**

仪 (德国 Bruker 公司); HR-ESI-MS 质谱仪 (Agilent 6545 Q-TOF LC-MS); Shimadzu LC-20AT 半制备型 HPLC (日本岛津公司); 分析型 HPLC-ECD (日本 JASCO 公司); JASCO P-1500 型圆二色谱仪 (日本 JASCO 公司); JASCO P-2000 型旋光光谱仪 (日本 JASCO 公司); Spectrum Two 红外光谱仪 (珀金埃尔默公司); PerkinElmer 650 型紫外光谱仪 (珀金埃尔默公司); Thermo 多功能酶标仪 (Thermo 公司)。

YMC ODS-A 制备型色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm); YMC ODS-A 分析型色谱柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm); YMC-Amylose-C Neo column 手性色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); ODS 柱色谱填料 (60~80 μm, 日本 YMC 公司); 二氯甲烷、石油醚、乙醇、甲醇、醋酸乙酯等 (分析纯, 色谱级, 西陇科学股份有限公司); DMEM 培养基和特级胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 美国 Gibco 公司); CCK-8 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司)。人结肠癌 HCT116 细胞、人结肠腺癌 SW480 细胞、人肝癌 HepG2 细胞、人膀胱癌 T24 细胞、乳腺癌 MCF7 细胞、人宫颈鳞癌 SiHa 细胞和人非小细胞肺癌 A549 细胞均购自中国科学院上海细胞库。

长春花于 2020 年 6 月采自中国海南海口, 由广西师范大学唐绍清教授鉴定为长春花 *C. roseus* (L.) G. Don。植物凭证样本 (ID-20200621) 存放于广西师范大学药用资源化学与分子工程国家重点实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

长春花干燥的全草 (25.0 kg) 以 95% 乙醇回流提取 4 次 (100 L×3 h), 合并提取液减压浓缩得粗提物 (2.1 kg)。粗提物溶于 3% 酒石酸水溶液, 调 pH 2~3, 以醋酸乙酯萃取 4 次, 分得醋酸乙酯层和水层。水层经 Na₂CO₃ 调 pH 9~10, 再以二氯甲烷萃取, 得二氯甲烷部分 (734 g)。该部分经硅胶柱色谱梯度洗脱, 获得 8 个组分 (A~H)。组分 B (7.2 g) 经 ODS 柱梯度洗脱 (20%~100% 甲醇), 得 8 个亚组分 (B1~B8)。B2 (350.0 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离为 7 个亚组分 (B2a~B2h), 将 B2d (67.8 mg) 经 HPLC (甲醇-水 55:45, 7 mL/min) 纯化, 得到化合物 **5** (*t_R*=38.0 min, 6.1 mg) 和 **3** (*t_R*=56.0 min, 4.3 mg)。通过半制备 HPLC (甲醇-水 50:50, 7 mL/min) 对组分 B2h (67.8 mg)

进行分离,得到化合物 **1** ($t_R=39.0$ min, 5.6 mg)、**4** ($t_R=54.0$ min, 3.4 mg) 和 **2** ($t_R=31.0$ min, 3.5 mg)。

2.2 细胞毒活性测试

各细胞以 1.2×10^5 个/孔的密度接种于 96 孔板,使用含 10%FBS、1%双抗的 DMEM 或 RPMI 1640 培养基,在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养至约 65%融合度。随后分别加入不同浓度 (0、2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 的化合物或依托泊苷处理,孵育 48 h。每孔再加入 10 μL MTT 溶液,继续孵育 46 h 后弃去培养基,加入 100 μL DMSO 振荡 10 min 使结晶溶解。于 570 nm 检测吸光度 (A) 值,以 630 nm 为参比波长,测定各孔 A 值。按公式计算细胞抑制率,采用 GraphPad Prism 9 计算半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值,实验均重复 3 次并取平均值。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{样品}} / A_{\text{对照}}$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末,通过结合 HR-ESI-MS 的正离子准分子离子峰 m/z 190.086 4 [$M+H$]⁺ (calcd 190.086 3 for C₁₁H₁₂NO₂) 和 ¹³C-NMR 数据 (表 1) 确定其分子式为 C₁₁H₁₁NO₂。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 252.4, 283.9。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 1 732, 1 609, 1 248, 1 203, 1 116; 表明化合物 **1** 中存在苯环、羰基。通过分析化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 HSQC 数据发现其拥有 4 个芳香质子信号 [δ_H 8.22 (1H, d, $J=8.2$ Hz), 7.26 (1H, m), 7.13 (2H, overlapped)], 3 个亚甲基质子信号 [δ_H 5.07 (1H, d, $J=15.2$ Hz), 4.92 (1H, d, $J=15.2$ Hz), 2.62 (2H, m), 2.53 (1H, m), 2.01 (1H, m)] 和 1 个次甲基 [δ_H 5.36 (1H, dd, $J=6.7, 5.4$ Hz)]。通过 ¹³C-NMR 结合 HSQC 分析提示化合物 **1** 共有 11 个碳信号,包括 1 个羰基信号 (δ_C 174.4)、6 个芳香碳、3 个亚甲基碳 (δ_C 69.0, 30.9, 25.7)、1 个次甲基 (δ_C 89.0)。上述数据表明化合物 **1** 与 bulgarixine B 的核磁数据十分类似^[6], 它们主要的区别在于化合物 **1** 缺少 1 个羰基信号。在 ¹H-¹H COSY 谱图 (图 2) 中可以观察到 H-3/H-4、H-4/H-5 的相关信号; 同时, HMBC 谱图中的 H-3、H-4、H-7 与 C-5 的相关信号证实了上述结构推测。通过综合地分析 2D NMR 信息进一步确定化合物的平面结构。化合物 **1** 的旋光度值接近于 0 且 CD 光谱无明显 Cotton 效应,提示其为外消旋体。经 HPLC-ECD 手性拆分后,获得比例为 1 : 1 的 1 对对映体 **1a** 和 **1b**, 在甲醇溶剂中测试其比旋光度分

别为 +32.4 和 -33.1。二者的 CD 谱呈完全对称,其 Cotton 效应分别为 **1a** (+204, -216, +249) 和 **1b** (-204, +216, -249) (图 3), 结合 ECD 计算结果, 分别确定其绝对构型为 (*S*)-**1a** (长春花碱 A) 和 (*R*)-**1b** (2,3,3a,5-tetrahydro-1*H*-benzo[*d*]pyrrolo [2,1-*b*] [1,3]oxazin-1-one)^[7]。经 SciFinder 数据库检索, 化合物 **1a** 为新化合物, 命名为长春花碱 A。

表1 化合物**1**的¹H-和¹³C-NMR数据 (600/150 MHz, CD₃OD)
Table 1 ¹H- and ¹³C-NMR data for compound **1** (600/150 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_H	δ_C
2		174.4
3	2.62 (m)	30.9
4	2.53 (m), 2.01 (m)	25.7
5	5.36 (dd, $J=6.7, 5.4$ Hz)	89.0
7	5.07 (d, $J=15.2$ Hz), 4.92 (d, $J=15.2$ Hz)	69.0
8		125.6
9	7.13 (overlapped)	125.7
10	7.13 (overlapped)	125.8
11	7.26 (m)	128.3
12	8.22 (d, $J=8.2$ Hz)	120.3
13		135.3

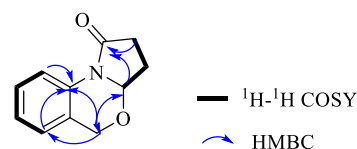


图2 化合物**1**关键¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关
Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlation of compound **1**

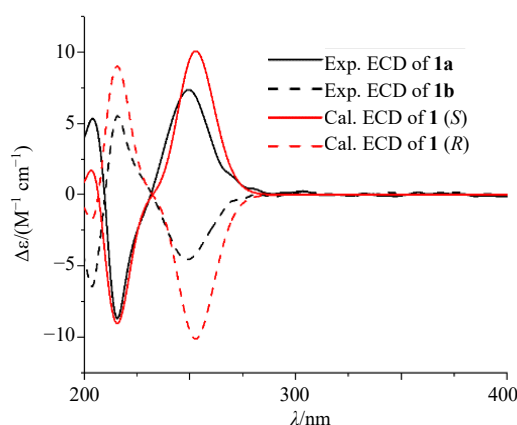


图3 化合物**1a**和**1b**的实测和计算 ECD 图
Fig. 3 Experimental/calculated ECD spectra of compounds **1a** and **1b**

化合物 **2**: 黄色粉末, 分子式为 $C_{12}H_8N_2O_2$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.48 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-4), 8.45 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-3), 8.32 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 7.84 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8), 7.63 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-6), 7.32 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-7); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 165.6 (C-10), 141.9 (C-1), 135.5 (C-8a), 135.4 (C-3), 131.5 (C-8b), 130.7 (C-5a), 129.3 (C-6), 122.0 (C-5), 120.1 (C-7), 119.9 (C-4a), 118.4 (C-4), 113.1 (C-8)。以上数据与文献报道相一致^[8], 故鉴定化合物 **2** 为 β -carboline-1-carboxylic acid。

化合物 **3**: 淡黄色粉末, 分子式为 $C_{13}H_{10}N_2O$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.46 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-3), 8.30 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-4), 8.22 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5), 7.70 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-8), 7.59 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-7), 7.31 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6), 2.82 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 203.2 (C-10), 143.5 (C-8a), 138.6 (C-3), 137.2 (C-1), 136.2 (C-8b), 133.3 (C-4a), 130.3 (C-7), 122.7 (C-5), 121.6 (C-5a, 6), 120.3 (C-4), 113.5 (C-8), 26.1 (C-11)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **3** 为 1-acetyl- β -carboline。

化合物 **4**: 淡黄色针晶 (甲醇), 分子式为 $C_{13}H_{10}N_2O_2$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 8.43 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-3), 8.34 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-4), 8.24 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.73 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 7.62 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.33 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-6), 4.12 (3H, s, OMe); ^{13}C -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 167.2 (C-10), 143.3 (C-1), 138.8 (C-3), 137.8 (C-8a), 133.6 (C-8b), 130.7 (C-5a), 130.5 (C-6), 122.8 (C-5), 121.7 (C-7), 121.7 (C-4a), 120.0 (C-4), 113.5 (C-8), 53.0 (CO_2Me)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **4** 为 β -carboline alkaloid。

化合物 **5**: 黄色晶体 (甲醇), 分子式为 $C_{14}H_{15}NO$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 10.47 (1H, s, H-10), 8.36 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4), 7.36 (1H, dd, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-7), 7.28 (1H, dd, $J = 7.2, 1.3$ Hz, H-5), 7.25 (1H, m, H-6), 6.23 (1H, dd, $J = 17.5, 11.0$ Hz, H-12a), 5.31 (1H, d, $J = 17.5$ Hz, H-13b), 5.28 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-13a), 1.68 (6H, s, H-14, 15); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 186.6 (C-10), 154.7 (C-2), 145.0 (C-12), 133.8 (C-8), 127.4 (C-9), 123.7 (C-6), 123.2 (C-5), 122.2 (C-4), 114.3 (C-13), 114.1 (C-3), 110.9 (C-

7), 39.9 (C-11), 29.0 (C-14, 15)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 2-(2-methyl-3-en-2-yl)-1*H*-indole-3-carbaldehyde。

3.2 抗肿瘤活性

本研究采用 CCK-8 法对所得生物碱 (**1a**/**1b**~**5**) 在 7 种肿瘤细胞株上的细胞毒活性进行了评价, 并以依托泊苷作为阳性对照。结果显示, 化合物 **1b** 对 T24 细胞表现出中等的抑制作用 [$(38.24 \pm 0.64) \mu\text{mol/L}$]。而依托泊苷在 T24 细胞中的 IC_{50} 值为 $(14.76 \pm 0.78) \mu\text{mol/L}$ 。其余化合物在所测试的细胞株中均未显示活性 ($IC_{50} > 50 \mu\text{mol/L}$)。

4 讨论

从长春花干燥全草的 95%乙醇提取物中分离得到 6 个生物碱 (**1a**/**1b**~**5**), 其中化合物 **1a** 为新化合物。对所有化合物进行体外抗肿瘤活性评价, 结果显示化合物 **1b** 表现出一定抑制作用。本研究不仅丰富了长春花的化学成分研究, 也为其药效物质基础及进一步的药理研究提供了理论支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨莹莹, 张广晶, 徐雅娟, 等. 长春花化学成分研究进展 [J]. 世界中医药, 2014, 9(7): 955-957.
- [2] Jamal Q M S, Ahmad V. Identification of metabolites from *Catharanthus roseus* leaves and stem extract, and *in vitro* and *in silico* antibacterial activity against food pathogens [J]. *Pharmaceuticals*, 2024, 17(4): 450.
- [3] Hirasawa Y, Kase A, Okamoto A, *et al.* Vincalididine A, a unique bisindole alkaloid from *Catharanthus roseus* [J]. *J Nat Med*, 2024, 78(2): 382-392.
- [4] Gigant B, Wang C G, Ravelli R B G, *et al.* Structural basis for the regulation of tubulin by vinblastine [J]. *Nature*, 2005, 435(7041): 519-522.
- [5] 张思祺, 徐思怡, 林小伟, 等. 长春花生物碱药理活性及机制研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(12): 4490-4498.
- [6] Ariantari N P, Daletos G, Mándi A, *et al.* Expanding the chemical diversity of an endophytic fungus *Bulgaria inquinans*, an ascomycete associated with mistletoe, through an OSMAC approach [J]. *RSC Adv*, 2019, 9(43): 25119-25132.
- [7] Zhang Z Q, Wang H C, Kuang Z, *et al.* From tea to health: Exploring *Abrus mollis* for liver protection and unraveling its potential mechanisms [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(41): 15145-15155.

- [8] Wang N, Li Z Y, Zheng X L, *et al.* Quality assessment of Kumu injection, a traditional Chinese medicine preparation, using HPLC combined with chemometric methods and qualitative and quantitative analysis of multiple alkaloids by single marker [J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 856.
- [9] Lee D S, Eom S H, Jeong S Y, *et al.* Anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) substance from the marine bacterium *Pseudomonas* sp. UJ-6 [J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2013, 35(2): 171-177.
- [10] Alatafica, Kehrimen N, Rozimamat R, *et al.* Chemical constituents from the dregs of *Euphorbia*[J]. *Chin Tradit Patent Med*, 2018, 40: 1113-1115.
- [11] May Zin W W, Buttachon S, Dethoup T, *et al.* Antibacterial and antibiofilm activities of the metabolites isolated from the culture of the mangrove-derived endophytic fungus *Eurotium chevalieri* KUFA 0006 [J]. *Phytochemistry*, 2017, 141: 86-97.

[责任编辑 王文倩]