

黄草乌化学成分及药理作用研究进展



李一果^{1,2}, 牟凤娟³, 李昆志^{1,*}

¹昆明理工大学生命科学与技术学院, 云南昆明 650500

²昆明市农业农村局, 云南昆明 650500

³西南林业大学林学院, 云南昆明 650224

摘要: 黄草乌 (*Aconitum vilmorinianum* Kom.) 属毛茛科乌头属植物, 是中国西南地区的重要中药材。黄草乌含有滇乌碱等二萜类生物碱, 具有祛风除湿、温经止痛、解毒消肿、散寒活血、抗抑肿瘤等功效。国内外学者围绕黄草乌生物学、化学成分、药理作用、乌头碱毒性等方面开展了大量的研究工作。通过文献研究表明, 云南是黄草乌属植物资源最丰富的省份, 黄草乌含 47 种生物碱, 以及黄酮、甾醇等对人体有益的非生物碱成分。规范化的种子种苗、种植技术和采收的研究, 为黄草乌规范化生产提供科学的依据。组织培养、生物碱代谢途径、内参基因筛选、蓝色的花基因鉴定等方面的研究, 为黄草乌生物技术的应用提供借鉴。黄草乌的镇痛、抗炎、免疫调节、抗肿瘤、毒性等研究, 为黄草乌的临床及开发应用提供科学参考。提出黄草乌的药理活性、资源保护、规范化生产及毒性研究等研究方向, 为黄草乌综合开发利用提供参考。

关键词: 黄草乌; 化学成分; 生物碱; 药理作用; 毒性作用

DOI: [10.57237/j.mrf.2023.03.004](https://doi.org/10.57237/j.mrf.2023.03.004)

Research Progresses on Chemical Components and Pharmacological Functions of *Aconitum vilmorinianum* Kom

Li Yi-guo^{1,2}, Mou Feng-juan³, Li Kun-zhi^{1,*}

¹Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

²Kunming Bureau of Agriculture and Rural Affairs, Kunming 650500, China

³Faculty of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: *Aconitum vilmorinianum* (Ranunculaceae, *Aconitum*) is an important traditional Chinese medicine in southwest China. It contains diterpenoid alkaloids such as yunaconitine, which have many functions, such as antirheumatic activity, improvement in human meridians, relief of swelling and pain, activation of the blood circulation, and inhibition of tumor growth. Scholars at home and abroad have carried out a lot of research work around the biology, chemical composition, pharmacological action, toxicity of Aconitine, etc. According to literature research, Yunnan is the province with the richest plant resources of the genus *Aconitum*. *A. vilmorinianum* contains 47 kinds of alkaloids, as well as flavonoids, sterols and other non alkaloid ingredients that are beneficial to human body. The research on standardized seed seedlings, planting techniques, and harvesting provides a scientific basis for the standardized production of *A.*

*通信作者: 李昆志, likzkm@163.com

vilmorinianum. The research on tissue culture, alkaloid metabolism pathways, screening of internal reference genes, and identification of blue flower genes provides reference for the application of biotechnology in *A. vilmorinianum*. The research on analgesic, anti-inflammatory, immune regulation, anti-tumor, and toxicity of *A. vilmorinianum* provides scientific reference for its clinical and development applications. Propose research directions on the pharmacological activity, resource protection, standardized production, and toxicity of *A. vilmorinianum*, providing reference for the comprehensive development and utilization of *A. vilmorinianum*.

Keywords: *Aconitum vilmorinianum*; Chemical Components; Alkaloid; Pharmacological Functions; Toxic Effects

1 引言

黄草乌又名昆明乌头、草乌、昆明堵喇 (*Aconitum vilmorinianum* Kom.)，属毛茛科翠雀族乌头属乌头亚属乌头组蔓乌头系植物，有展毛黄草乌、深裂黄草乌两个变种。全世界有乌头属植物 350 种，主要分布在北半球温带地区[1]，中国除海南省外都有乌头属植物分布，中国有乌头属植物 200 余种，被作为药材使用的有 76 种[2]。中国云南横断山脉和金沙江河谷地区是乌头属植物的现代分布中心、分化中心和原始类群保存中心[3]。云南乌头属种类繁多，全国 31.7% 乌头属植物分布在云南，是乌头属植物分布的中心，有资源 66 种、25 个变种和 4 个变型[4]。在云南作为常用药材使用的有黄草乌、短柄乌头、乌头等植物。

黄草乌含有滇乌碱、草乌甲素等二萜类生物碱[5]。主要功效为祛风散寒、活血止痛、抗抑肿瘤、除湿解毒[6]，是云南道地的特色中药材，在民间广泛使用，被用作云南白药、草乌甲素片、百宝丹、三乌胶、兽药草乌注射液等中成药的重要原料[7]。在长期彝药人文环境的影响下，黄草乌被彝药和民间广泛使用，云南民间有冬季煮食黄草乌块根的习惯，被称为大补药。昆明是黄草乌的主产区，红河、楚雄、玉溪等地也有种植。随着黄草乌的需求量增加，种植规模和水平不断提高，黄草乌正成为山区半山区农民增收致富的重要中药材。目前，国内外学者集中围绕黄草乌生物学、化学成分、药理作用、乌头碱毒性等方面开展了大量的研究工作。

2 黄草乌生物学研究

2.1 黄草乌植物学特征

黄草乌块根有两种类型，即胡萝卜形和椭圆球形。茎缠绕、有分枝、被反曲短柔毛，有的没有柔毛。叶片质地为坚纸质，叶型为五角形，基部宽心形，叶表

面和背面叶脉有短柔毛，叶片和叶柄长度接近，叶片急尖或短渐尖，三全裂接近基部，中央全裂片呈菱形，侧全裂片呈斜扇形。花期 8-10 月，总状花序，花梗、花轴密被反曲短柔毛。小苞片狭线形、苞片线形密被柔毛。萼片紫蓝色，上萼片高盔形、外缘向下呈喙、外面被密短柔毛，侧萼片和花瓣无毛。花丝全缘或有小齿，距向后弯曲，唇微凹，雄蕊无毛，5 心皮、子房有柔毛，蓇葖果无毛，种子三棱形单面密生横膜翅[1]。

2.2 黄草乌种植技术研究

由于过度采挖，野生黄草乌资源濒临灭绝。然而黄草乌的需求日益增加，野生资源不能满足需要，因此，开展黄草乌人工驯化、种子萌发、种植技术研究，显得尤为重要。黄草乌为多年生草本，喜光但不耐高温，怕干旱和水涝，分布于高寒冷凉地区，适宜在海拔 2100-3500 m、年均温大于 15.16℃、年均降水量不低于 1100 mm 的地区，生育期为 220 d 左右[8]。在黄草乌人工栽培中，需要繁殖种源，有性繁殖主要是通过开花结实收获种子，无性繁殖主要通过块根繁殖和珠芽繁殖。生产上以块根和珠芽的无性繁殖为主，无性繁殖存在用种量大、生产成本高的问题，长期使用无性繁殖会导致种性退化、品质下降。黄草乌种子的萌发需要特殊的环境条件，有性繁殖筛选优质种源是生产的关键。黄草乌种子细小，1.27 g/千粒，种子有后熟特点。在 25℃ 种子进行吸水，0-2h 为急剧吸水，吸水速率最快，2-12h 期间，种子吸水速率缓慢，12h 后，趋于稳定，24h 吸水达到饱和期。黄草乌最适宜的发芽环境温度为 20℃，光照和暗培养实验发现，有无光照对黄草乌种子的萌发没有影响。在 5℃ 低温条件下处理 35 d，可加快种子萌发，200 mg/L 的 GA3 浸泡处理 24h 可提高种子发芽率[9]。

黄草乌栽培受气候环境、土壤环境的影响较大，有研

究在种植、施肥、病虫害防治、栽培方式、生物碱积累等方面做了积极探索。11-12 月是黄草乌种植最佳节令, 采收期为 10 月中上旬, 此时须根少、成品率最高、在采挖时避免伤及块根, 以免增加霉变, 影响质量[10]。根据土壤环境情况, 种植时需施足底肥, 6-8 片叶时第一次追肥, 开花前 20 d, 块根进入生长膨大的关键时期, 进行第二次施肥。在种植过程中, 可采取合理灌溉、及时除草、封项打叉等措施以提高产量。由于黄草乌种植在高海拔地区, 受气候环境影响明显, 病虫害主要是白粉病、根腐病和地老虎。大面积种植和重茬后, 随着土壤环境病菌积累, 病害发生随之加重。种植深度及土壤养分环境对黄草乌产量有影响, 商品黄草乌的耕作深度为 30 cm, 须根数量少, 丰产性好。繁育种苗为目的种植深度为 10 cm, 亩产头数较多[11]。在栽培模式方面, 通过大田试验研究发现, 以黄草乌为主要作物, 利用高秆玉米作为黄草乌匍匐茎攀爬的支架, 通过黄草乌和玉米的间作, 提高黄草乌产量的同时增加玉米收成, 达到了粮药双收的效果[12]。黄草乌对 Ca、P、Pb、As 元素的吸收有富集作用, As 直接参与黄草乌滇乌碱、黄草乌碱甲、黄草乌碱丙的形成。土壤中大量元素 P、K 是影响黄草乌生物碱积累主要元素, Pb、As 等微量元素有利于黄草乌生物碱的合成和积累。通过相关性研究发现, 黄草乌生物碱积累和年降水量、相对湿度、年均温呈正相关, 降水量少、年均温高、日照时数短, 黄草乌的总生物碱含量较高。黄草乌生物碱的积累和季节有很大的关系, 6-9 月是黄草乌的生长旺盛期, 但是 9-10 月是黄草乌根部生物碱快速积累期[13]。

2.3 黄草乌生物技术应用研究

黄草乌块根的长期无性繁殖会导致种性退化、产量和品质下降, 在生产上还存在用种量大、种植成本高、病害感染严重等问题。为满足规模化和标准化生产提供优质种苗的需要, 建立黄草乌快速繁殖体系可降低种苗成本, 并减少病害。通过快速繁殖体系建立发现, 黄草乌茎段较适宜作为离体快繁的外植体, 适宜茎段诱导的培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA, 适合诱导根的培养基为 NAA 0.5-1.5 mg/L+MS [14]。黄草乌生物碱代谢途径及关键基因研究结果表明, AvHMGR、AvDXS、AvDXR、AvKS 基因是黄草乌二萜生物碱合成的关键基因, miR6300 小 RNA 调控 AvHMGR 基因参与黄草乌二萜生物碱合成[15]。利用 qRT-PCR 对黄草乌根、茎、叶、花组织的内参进行基因筛选, 认为 GADPH、MDH 可作为根组的内参基因, MDH 和 18S rRNA 可作为茎组织的参

考基因, MDH、18S rRNA 和 ACT 可作为叶组织的内参基因, GAPDH、 β -TUBNA 和 MDH 可作为花组织的内参基因[16]。除了药用价值, 包含黄草乌在内的云南乌头属 40 余种植物具有较高观赏价值, 应该加强其园艺资源的开发利用[17]。黄草乌的花呈蓝色, 受类黄酮 3,5'羟基化酶基因调控, 名为 Av-F3'5'H, 从黄草乌花朵中克隆, 长度为 1563 bp, 编码 506 个氨基酸, 随花朵发育的形成, Av-F3'5'H 表达水平而呈递增趋势, 在完全变蓝色时达到最高。这个基因可能参与黄草乌蓝色花朵的形成, 并发挥重要的调节作用[18]。民间及药材市场上, 有滇南草乌和黄草乌混用情况, 影响了黄草乌质量, 为了准确鉴别二者药材, 通过 DNA 分子标记技术, 比较分析 ITS 序列, 发现滇南草乌和黄草乌 ITS2 区间第 596 个碱基处为鉴定二者的稳定信息位点, 可在分子水平上将二者加以区分[19]。根据 DNA 条形码的发现, 瓜叶乌头 (*A. hemsleyanum*)、短柄乌头 (*A. brachypodum*)、保山乌头 (*A. nagarum*)、小白撑 (*A. nagarum* var. *heterotrichum*)、无距小白撑 (*A. nagarum* var. *heterotrichum* f. *dielsianum*) 与黄草乌亲缘关系较近[20]。通过测序获得简单重复序列 (SSR) 18 个标记位点, 它们的等位基因数量为 1-5 个不等[21]。

2.4 黄草乌内生真菌的研究

黄草乌根际环境真菌丰富, 黄草乌内生菌可以分泌抗生素、毒素等代谢物质, 诱导植物产生系统抗性, 包括抗肿瘤、抗菌、抗病毒等作用。黄草乌根际发现 20 属 34 种 52 株内生真菌, 它们以子囊菌门为主, 镰刀菌属 (*Fusarium*) 和青霉菌属 (*Penicillium*) 是优势菌种, 丰富多样的根际内生真菌是药物筛选的潜在资源[22]。从滇南黄草乌 (*Aconitum austroyunnanense*) 根际分离内生菌得到 37 株, 优势菌种为镰孢霉属种群, 有 14 株抗菌活性菌株, 占 37.84%, 有 1 菌株具有高抗、菌谱广的特点, 这可能与乌头碱含量、乌头碱种类有关; 茎部抗菌活性菌株和种群多余根部。滇南黄草乌内生菌的研究结果为新型抗菌药物开发、乌头碱毒性、滇南黄草乌植物资源利用提供新的方向[23]。

3 黄草乌化学成分研究

3.1 黄草乌生物碱类成分

乌头属植物的二萜类生物碱包括双二萜、C₁₈、C₁₉、C₂₀ 4 种类型, 黄草乌中主要是二萜类生物碱, 以 C₁₉ 和 C₂₀ 两种为主, 上个世纪 60 年代, 黄草乌碱甲和黄

草乌碱乙是最先被分离鉴定的成分，随着黄草乌生物碱研究的不断深入，到目前为止，已分离出鉴定出 47 种生物碱，C₂₀ 二萜生物碱 3 种，C₁₉ 二萜生物碱 39 种，包括滇乌碱[24]、草乌甲素[25]等（见表 1）。

表 1 黄草乌生物碱成分

Table 1 Components of alkaloids from *Aconitum vilmorinianum*

编号	生物碱名称	骨架	文献	编号	生物碱名称	骨架	文献
1	滇乌碱 (yunaconitine)	C ₁₉	[24]	2	草乌甲素 (bulleyaconitine)	C ₁₉	[25]
3	黄草乌碱甲 (vilmorrianine A)	C ₁₉	[5]	4	黄草乌碱乙 (vilmorrianine B)	C ₁₉	[26]
5	黄草乌碱丙 (vilmorrianine C)	C ₁₉	[27]	6	黄草乌碱丁 (vilmorrianine D)	C ₁₉	[26]
7	14-乙酰基黄草乌碱丁 (14-O-acetylsachaconitine)	C ₁₉	[27]	8	黄草乌碱戊 (vilmorrianine E)	C ₁₉	[6]
9	黄草乌碱己 (vilmorrianine F)	C ₁₉	[6]	10	塔拉定 (talatizidine)	C ₁₉	[6]
11	黄草乌碱庚 (vilmorrianine G)	C ₁₉	[6]	12	异塔拉定 (isotatatizidine)	C ₁₉	[6]
13	大渡乌碱 (franchetine)	C ₁₉	[34]	14	塔拉乌头胺 (talatisamine)	C ₁₉	[27]
15	非洲防己碱 (columbidine)	C ₁₉	[6]	16	萨卡可尼亭 (sachaconitine)	C ₁₉	[28]
17	展花乌头碱 (chasmaconitine)	C ₁₉	[28]	18	南乌碱乙 (austroconitine)	C ₁₉	[32]
19	丽江乌头任碱 (acoforine)	C ₁₉	[6]	20	黄乌宁 (vilmorinine)	C ₁₉	[28]
21	黄乌亭 (vilmoritine)	C ₁₉	[28]	22	黄乌酮 (vilmorrianone)	C ₁₉	[31]
23	黄乌定 (vilmoridine)	C ₂₀	[29, 34]	24	黄乌生 (vilmorisine)	C ₁₉	[28]
25	粗茎乌头碱甲 (crassicauline A)	C ₁₉	[34]	26	白乌头宁 (bikhaconine)	C ₁₉	[32]
27	深裂黄草乌碱 (vilmorinianine, I)	C ₂₀	[32]	28	aconitramine A	C ₁₉	[27]
29	vilmorianone	C ₂₀	[29, 34]	30	14-O-veratrolyneoline	C ₁₉	[6]
31	karakoline	C ₁₉	[6]	32	condelphine	C ₁₉	[6]
33	14-acetylsachaconitine	C ₁₉	[6]	34	indaconitine	C ₁₉	[6]
35	14-acetylkarakoline	C ₁₉	[6]	36	14-acetyltalatizamine	C ₁₉	[6]
37	pseudaconine	C ₁₉	[6]	38	denudatine	C ₁₉	[6]
39	panicutine	C ₁₉	[6]	40	1-epi-16β-hydroxycardiopetaline	C ₁₉	[6]
41	patentine	C ₁₉	[33]	42	sachaconitne	C ₁₉	[27]
43	Hemsleyaconitines F	C ₁₉	[27]	44	Vilmoraconitine	C ₁₉	[27]
45	Hemsleyaconitines G	C ₁₉	[27]	46	N-ethylhok-busine B	C ₁₉	[27]
47	N-desethy-N-formyl-8-O-methyltalatisamine	C ₁₉	[27]				

3.2 黄草乌其他化学成分

黄草乌除了含有上述生物碱类成分外，从黄草乌药材、制黄草乌药材及其水溶性部位、乙酸乙酯部位，还分离到糖类、苷类、蛋白质、多肽等多种非生物碱成分（见表 2）。

表 2 黄草乌的非生物碱成分

Table 2 Components of non-alkaloids from *Aconitum vilmorinianum*

编号	化合物名称	文献	编号	化合物名称	文献
1	蔗糖 (sucrose)	[35]	2	甘草素 (liquiritigenin)	[35]
3	甘草苷 (liquiritin)	[35]	4	芒柄花苷 (formononetin)	[35]
5	大豆苷 (daidzin)	[35]	6	大豆苷元 (daidzein,8)	[34]
7	3,4-二甲氧基苯甲酸 (3,4-dimethoxybenzoic acid)	[35]	8	对羟基苯丙烯酸 (p-coumaric acid)	[35]
9	正十六烷酸	[35]	10	对羟基苯丙酸	[36]
11	对羟基苯甲酸	[36]	12	3-甲氧基-4-羟基苯甲酸	[36]
13	酪氨酸	[36]	14	乙酸	[36]
15	7,4'-二羟基黄酮	[36]	16	β-谷甾醇 (β-sitosterol)	[36]
17	β-谷甾醇乙酸酯	[33]	18	β-胡萝卜苷	[33]
19	对氨基肉桂酸甲酯 (p-Aminocinnamic acid methyl ester)	[37]	20	1,3-双棕榈酸甘油酯 (1,3-dipalmitin)	[37]
21	菲啶-6(5H)-酮 (Phenan thridin-6(5H)-one)	[37]	22	咔唑 (carbazole)	[37]
23	(3R,5S,8R,9R,10S,14R)-3,17-dihydroxycleistantha-12,15-diene	[37]	24	16,17-epoxy-3,15-dihydroxycleistantha-12-ene	[37]
25	Methyl-3-Hydroxy-4-(Ben zoyl-amino) Benzoate	[37]			

4 二萜类生物碱分离鉴定方法

4.1 硅胶柱色谱分离法

硅胶柱是将 SiO_2 作为柱子的填充料进行物质分离, SiO_2 极性较弱不易被吸附, 不同物质在硅胶上的吸附力不一样, 极性较大的物质容易被硅胶吸附。硅胶柱色谱分离法可分离纯化生物碱、芳香油、萜类、皂苷等天然产物。首次分离的黄草乌碱甲和黄草乌碱乙生物碱就是利用硅胶柱分离, 再经层析和光谱鉴定后得到的[24]。

4.2 Al_2O_3 柱色谱分离法

Al_2O_3 柱色谱分离法的填充料是微碱性的 Al_2O_3 , 是分离植物中生物碱等碱性成分的理想方法。根据碱性柱层析的方法将黄草乌和深裂黄草乌中的 8-去乙酰基滇乌头碱、深裂黄草乌碱、滇乌碱等多种二萜类化合物进行分离纯化[28-30]。

4.3 大孔树脂分离法

大孔树脂具有吸附作用, 是有机吸附剂, 通过选择性吸附分离纯物质, 能够对特定结构的化合物进行吸附, 从而分离化合物。在中药有效成分分离运用较多, 从制黄草乌中, 使用大孔树脂方法分离得到蔗糖、甘草苷、3,4-二甲氧基苯甲酸等多种化合物[35]。

4.4 反相柱分离法

反相柱分离法中应用较多的是 C_{18} 反相柱, 填充料为十八烷基硅烷键合硅胶, C_{18} 是长链烷基键合, 为疏水材料, 官能团是烷烃, 具有很高的含碳量, 对大分子物质具有较强的适应性。使用反相柱分离法, 在制的黄草乌中鉴定分离 β -胡萝卜苷、黄草乌碱丁、8-去乙酰基滇乌头碱、talatisamine、geniculatine 等化合物[36]。

4.5 化学结构鉴定

随着科学技术发展, 化学结构鉴定方法不断改进, 早期的结构研究多采用官能团显色反应、理化常数测定、元素分析等化学方法推测化学结构。磁共振谱、质谱、红外光谱等技术在化学结构鉴定均有应用。近年来, 随着鉴定技术的发展, 黄草乌的共轭体系、芳香结构可以通过紫外光谱推断, 官能团结构可通过红

外光谱分析, 分子片段通过质谱分析, 碳氢骨架信息可通过核磁共振谱反映。特别是超导核磁共振技术、核磁共振谱及高效液相色谱-质谱联用等新的技术, 由于其选择性强、简便灵敏、材料用量少, 大大提高了黄草乌生物碱等各种中药材有效成分化学结构鉴定的效率。

5 二萜类生物碱的药理作用

二萜生物碱是黄草乌的主效成分, 主要类型有单酯型、双酯型、醇胺型。虽然关于黄草乌药理作用的研究报道不多, 但是从黄草乌中鉴定了滇乌碱、草乌甲素、黄草乌碱甲等 40 多种生物碱, 这些生物碱与其他乌头属植物存在相同的成分, 同时这些生物碱也是黄草乌药理作用的基础。黄草乌具有祛风散寒、活血止痛、温经止痛、解毒消肿、抗抑肿瘤等药理作用。

5.1 镇痛作用

研究表明生物碱通过对钠离子通道调节而取镇痛作用, 黄草乌镇痛的主要活性成分是滇乌头碱、草乌甲素、黄草乌碱甲和黄草乌碱乙等双酯型二萜生物碱。双酯型生物碱通过与钠离子通道特异位点结合, 抑制疼痛传导。单酯型生物碱也有镇痛和抗癫痫作用, 与二萜生物一样是通过抑制钠通道而发挥作用, 胺醇类生物碱的镇痛作用较弱[38]。双酯型二萜生物碱可以增强钙和钠离子流, 具有较强的镇痛活性, 严重情况下会导致心率失常, 引起生物碱毒性。单酯型和醇胺型镇痛活性和毒性较双酯型弱[39]。草乌甲素可以通过降低血清中的 PGE_2 而起到抗炎症的镇痛作用, 对钠离子通道进行调节, 抑制兴奋传导, 降低痛觉传递。高浓度草乌甲素是通过丧失神经完全兴奋、降低信号传导的能力而发挥镇痛作用[40]。草乌甲素具有抑制炎症、疼痛的作用, 具有非耐受性和成瘾性特点, 目前, 在临床上已用作镇痛药物[41]。8-去乙酰基滇乌头碱对小鼠疼痛的镇痛作用效果显著[42]。滇乌碱镇痛作用效果大于滇西堵喇碱甲和 3-乙酰基滇乌碱, 而镇痛治疗指数小于二者[43]。相比吗啡类药物, 乌头碱镇痛时间长、无药物依赖性, 对消化系统的镇痛效果较好, 对各种癌症疼痛也有很好的镇痛作用。乌头碱的镇痛效果与剂量有关, 要避免中毒情况发生。乌头生物碱类的药物, 如 8-去乙酰基滇乌头碱、滇乌头碱、草乌甲素等, 不但广泛用于临床治疗腰腿痛、头痛、痹痛、颈肩痛

等病症，还用于治疗各种原因引发的慢性疼痛[44]。

5.2 抗炎作用

生物碱是治疗风湿和类风湿性关节炎的常用药物。《本草纲目》：乌头主大风顽痹；《金匱要药》：历节病，不可屈伸，疼痛，乌头汤主之。研究表明，乌头碱的抗炎机理是作用中枢神经系统，在免疫性和非免疫抗性炎症治疗中有明显的疗效[45]。在大鼠足跖肿胀、小鼠耳肿实验中发现，乌头总碱、滇乌碱、乌头碱可以增强毛细血管通透性，减少炎症产生的渗出液渗出，表现出较强的抗炎活性。滇乌碱、草乌甲素对小鼠耳廓肿胀、抑制前列腺素等方面的抗炎作用也有明显的效果，滇乌碱的抗炎疗效与肾上腺和垂体无关[43]，乌头碱的抗炎机理和乌头碱增加毛细血管渗透性有关[46]。

5.3 对心血管作用

二萜类生物碱对心血管的研究始于 20 世纪 60 年代，试验研究发现，在不引起中毒的合理用药剂量，乌头类生物碱对扩张四肢血管、冠状血管、急性心肌缺血症状和常压耐缺氧有明显的的作用，可以减少心肌细胞的氧化损伤，抵抗心肌细胞凋亡[47]。乌头碱的作用机制是通过加强钠离子内流，改善钠离子通道，进而增强心肌收缩的能力；由于乌头碱用药剂量大小不好掌控，在治疗心血管疾病时容易引起心律失常，这属于毒性反应[38]。因为乌头碱非常容易引起室颤和心律失常，因此，没有作为强心药物的研究和应用。

5.4 免疫调节作用

类风湿性免疫疾病的发生是免疫功能失调的重要表征，而草乌甲素治疗类风湿具有良好的抗炎镇痛作用[48]。乌头碱可明显提高抗原的表达，从而加强免疫应答能力，提高巨噬细胞的抗原表达[49]。肿瘤坏死因子的异常表达和失调引发类风湿性发病，研究发现乌头碱和新乌头碱能够抑制肿瘤坏死因子的分泌，从而抑制巨噬细胞表达[50]。炎症会产生病原物，滇乌碱能够增强内皮系统的吞噬功能，促进病原物的清除[49]。乌头多糖可以提高巨噬细胞的吞噬能力，增殖淋巴细胞[51]。酸性多糖可以增加腹膜血巨噬细胞的活性，抑制小鼠胸腺、胰腺指数，提高抗体形成能力和淋巴细胞转化速率[52]。

5.5 抗肿瘤作用

研究表明，乌头碱具有抑制肿瘤生长、抵抗肿瘤转移的作用。乌头碱对 FC 胃癌和 S-180 肉瘤均有抑制作用，还可以抑制 Lewis 肺癌的自发转移[53]。乌头碱能够抑制肝癌细胞增长，双酯型生物碱抑制人肿瘤细胞增长[53]。乌头注射液用于治疗消化系统的晚期胃癌等恶性肿瘤。肌肉注射总生物碱 0.18 mg/d，一方面可以抑制癌瘤生长，另一方面还可降低癌细胞的自发转移[47]。治疗原发性肝癌时，临床上乌头注射液可以增加病人饮食，减轻临床病症，延长病人寿命[54]。在小鼠灌胃和腹腔注射研究中发现，乌头多糖抑制 H-22 瘤和 S-180 瘤生长，抑制小鼠肿瘤的生长，抑制率达 50%。乌头碱、次乌头碱、新乌头碱等也有抗肿瘤作用，在大鼠肿瘤研究中，可明显降低 ras 肿瘤的基因表达[55]。乌头的生物碱在治疗骨肉瘤、乳腺癌、皮肤纤维癌，以及淋巴肉瘤、鼻咽癌等方面都有效果[55]。此外，研究还发现二萜生物碱具有降血糖、降血脂、止咳平喘、抗衰老、保护肾脏、调节内分泌、影响能量代谢等药理作用，随着二萜生物碱药理作用研究的不断深入，乌头属药用植物的药用价值将更加广泛。

5.6 毒性作用

乌头属植物不仅具有很好的药理活性，而且也具有较强的毒性，乌头类的生物碱既是该类植物的生理活性物质，也是引起中毒的主要毒性物质，黄草乌中的主要活性成分也是生物碱，其毒性作用和其他乌头属植物有相同之处。研究发现，乌头碱具有很强的心脏毒性，乌头碱能促进迷走神经兴奋，导致心脏起搏出现不正常、发生传导障碍和异位节律，甚至休克和脑缺血等综合征[56]。双酯类生物碱通过激活钠离子通道，增加钠离子的内部流量，提高心肌兴奋，促进细胞膜异位节律，导致心律失常、室颤和猝死。心室肌细胞中有连接蛋白 Cx43，乌头碱可改变 Cx43 连接蛋白的磷酸化状态，产生心脏毒性，乌头碱抑制心肌的呼吸酶及氧化磷酸化，影响心肌三羧酸循环，导致心肌有氧化代谢和能量供给不足，引发心脏毒性[39]。乌头碱可导致钙通道阻碍，引起神经递质过度积累，引起严重的心脏毒性，导致神经元坏死[57]。此外，乌头还具有胚胎毒性和致畸作用。大剂量乌头可减少胎鼠生长和胸骨骨化，血管分化不良，形态分化异常，并表现出一定的量效关系[58]。乌头碱还可麻痹呼吸和血管运动中枢，导致呼吸衰竭休克。生草乌、生川乌及提

取物无遗传毒性,但是草乌对海马神经元表现神经毒性[59]。不同类型的生物碱毒性不同,双酯型、单酯型和胺基醇型生物碱都表现毒性。双酯型生物碱 C₈ 的乙酰基水解后为单酯型,单、双酯型生物碱 C₁₄ 的苯甲酰基水解后为胺基醇型。双酯型毒性最强,单酯型较强,胺基醇型较弱[58]。

不同炮制时间、炮制方法、药材配伍、药材质量等都会对黄草乌的毒性产生影响。研究表明,在生草乌煎煮过程中乌头碱含量变化及动力学参数研究中发现,随着乌头碱逐渐溶出,分解逐渐加快,半衰期=2.0962h,0-2h 乌头碱的含量逐渐升高,随着煎煮时间延长含量逐渐降低。根据药典要求,煎煮时间 12h 以后,毒性明显降低[59]。常压蒸煮法炮制的草乌,双酯型生物碱大大减少,含量小于 0.04%,毒性降低 70.32 倍,单酯型生物碱则明显增加[60]。此外,药材原料的品种、产地、患者个体差异、持续用药的时间等都会对毒性产生影响。保持药效,降低毒性,是有效用药的毒性和安全性关键。

6 结果与展望

通过对黄草乌的文献研究表明,黄草乌是中国西南地区的重要中药材,云南是黄草乌资源最丰富的省份。黄草乌不仅富含 47 种生物碱,还有黄酮、甾醇等对人体有益的非生物碱成分。黄草乌种植技术研究表明,不论是种子种苗培育,还是栽培技术、土壤营养、采收时期,均需要规范的技术措施,以此获得优质的药材原料。组织培养、生物碱代谢途径、内参基因筛选、蓝色的花基因鉴定等方面的研究,为黄草乌生物技术的应用提供借鉴。黄草乌的镇痛、抗炎、免疫调节、抗肿瘤、毒性等研究,为黄草乌的临床应用提供可以参考的依据。

本文从黄草乌的生物学、化学成分、药理作用进行归纳、整理与分析,发现黄草乌在研究开发方面还存在以下问题:(1)黄草乌的有效成分如生物碱、多糖、黄酮、甾醇等化学成分、药理活性、生物合成还需进一步研究,以扩大黄草乌的应用;(2)黄草乌的生态类型和变异类型资源丰富,应加强黄草乌资源保护;(3)黄草乌地上部分也有丰富的开发价值,如花为蓝色,花期长,可加强园艺方面的研究应用。此外,地上部也含有生物碱等有效成分,但生产上常作为废弃物处理,应加大茎叶的开发研究;(4)黄草乌种植粗放,需要加强种子种苗培育、规范化种植和产地加工的技术

研究,提高黄草乌的产量和品质;(5)在民间有食用黄草乌的习惯,由于生物碱毒性,常发生中毒事件,应加强黄草乌煮食方法、时间、食用量等方面的研究,避免黄草乌中毒的情况发生。本文通过概述黄草乌相关研究,为黄草乌的生物学研究、有效成分研究、临床研究、综合开发利用提供理论基础,对充分发挥黄草乌的可持续发展具有一定的指导作用。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 27 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 113-326.
- [2] 傅立国, 陈潭清, 郎楷永, 等. 中国高等植物 (第三卷) [M]. 青岛: 青岛出版社, 2000: 404.
- [3] 肖小河, 陈士林, 陈善庸. 中国乌头属分布样式的数值分析 [J]. 植物学通报, 1992, 9 (1): 46-49.
- [4] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志 (第 11 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 51-108.
- [5] 杨崇仁, 郝小江, 王德祖, 等. 黄草乌的生物碱研究 [J]. 化学学报, 1981, 39 (2): 147-152.
- [6] 李谦, 过立农, 郑健, 等. 乌头属药用植物研究进展 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36 (7): 1129-1149.
- [7] 国家中医药管理局 (中华本草) 编委会. 华本草 3 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 14-119.
- [8] 邓廷丰, 李培清. 云南野生滇南黄草乌人工驯化栽培技术 [J]. 农村实用技术, 2001 (15): 19.
- [9] 艾洪莲, 何华杰, 杨曼思, 等. 黄草乌种子萌发特性研究 [J]. 种子, 2015, 34 (12): 80-82.
- [10] 魏明, 周国华, 李俊梅, 等. 人工栽培黄草乌最佳采收期研究 [J]. 云南农业, 2011 (6): 25.
- [11] 周国华, 魏明, 李俊梅, 等. 不同耕作深度对黄草乌产量的影响 [J]. 云南农业, 2010 (11): 26.
- [12] 字淑慧, 沙本才, 杨生超, 等. 一种提高黄草乌经济效益的复合方法: CN201511017081.7 [P]. 2015-12-31.
- [13] 汪丽娅. 黄草乌化学与环境相关性研究 [D]. 北京: 北京师范大学, 2005.
- [14] 王卜琼, 韦建荣, 李红仙, 等. 黄草乌离体快繁技术研究 [J]. 中国农学通报, 2008, 24 (7): 235-237.
- [15] Yi-Guo Li, Feng-Juan Mou, Kun-Zhi Li. De novo RNA sequencing and analysis reveal the putative genes involved in diterpenoid biosynthesis in *Aconitum vilmorinianum* roots [J]. 3 Biotech, 2021, 11: 96.

- [16] Yi-Guo Li, Feng-Juan Mou, Kun-Zhi Li. Selection and evaluation of reference genes by RT-qPCR analysis in *Aconitum vilmorinianum* Kom. [J]. Pakistan Journal of Botany, 2021, 53: 6.
- [17] 关文灵, 李世锋, 郑思乡. 云南乌头属花卉资源及其开发利用 [J]. 中国野生植物资源, 2002, 21 (6): 22-26.
- [18] 马璐琳, 王祥宁, 贾文杰, 等. 黄草乌 Av-F3'5'H 基因的克隆与表达分析 [J]. 西南农业学报, 2015, 28 (6): 2434-2443.
- [19] 张晓南, 杜春华, 符德欢, 等. 黄草乌及其混淆品 ITS 序列的分析鉴别 [J]. 中药材, 2012, 35 (5): 1410-1413.
- [20] He J., Wong K.-L., Shaw P.-C., et al. Identification of the medicinal plants in *Aconitum* L. by DNA barcoding technique [J]. Planta Medica, 2010, 76 (14): 1622-1628.
- [21] He J., Zhang Z.-R., Yang J.-B., et al. Isolation and characterization of 18 microsatellites for *Aconitum vilmorinianum* Kom. (Ranunculaceae) using next-generation sequencing technology [J]. Conservation Genetics Resources, 2015, 7 (2): 579-581.
- [22] 尹田鹏, 俞静, 王家鹏, 等. 黄草乌根部内生真菌的分离与鉴定 [J]. 中国医药导报, 2016, 13 (30): 9-11.
- [23] 李治滢, 杨丽源, 李绍兰, 等. 滇南黄草乌内生真菌抗菌活性的筛选 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20 (5): 1027-1029.
- [24] 朱元龙, 朱任宏. 黄草乌根中的生物碱 [J]. 药学学报, 1965, 12 (3): 167-170.
- [25] 李东平, 李林, 欧阳捷, 等. 粗茎乌碱 I 相对空间构型的 NMR 解析 [J]. 分析测试学报, 2008, 27 (1): 1-5.
- [26] 杨崇仁, 郝小江, 周俊, 等. 黄草乌碱乙和碱丁的结构 [J]. 云南植物研究, 1979, 1 (2): 41-43.
- [27] 汪焕芹, 刘波, 詹睿, 等. 黄草乌二萜生物碱成分研究 [J]. 云南农业大学学报, 2014, 29 (5): 773-777.
- [28] 丁立生, 陈耀祖, 吴凤镔, 等. 黄草乌中的新二萜生物碱 [J]. 化学学报, 1992, 50 (4): 405-408.
- [29] 唐天兴, 陈东林, 王锋鹏. 黄草乌中的新的二萜生物碱 [J]. 有机化学, 2014, 34 (5): 909-915.
- [30] 望艳. 基于物质基础的黄草乌药材质量标准研究 [D]. 昆明: 云南中医学院, 2013.
- [31] 吴凤镔. 黄乌酮的 X 射线结构测定 [J]. 天然产物研究与开发, 1991, 3 (1): 35-39.
- [32] 丁立生, 陈耀祖, 李伯刚. 展毛黄草乌的生物碱研究 [J]. 植物学报, 1991, 33 (10): 807-809.
- [33] Ding L S, Chen Y Z, Wu F E, et al. A diterpenoid alkaloids from *Aconitum vilmorinianum* var. *patentipilum* [J]. Phytochemistry, 1990, 29 (11): 3694-3696.
- [34] 李继印, 李绍鹏, 张瑞林, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定云南黄草乌中滇乌碱、粗茎乌头碱甲和塔拉萨敏的含量 [J]. 云南大学学报 (自然科学版), 2017, 39 (4): 650-655.
- [35] 谢艳芳. 制黄草乌水溶性部位的化学成分研究 [D]. 昆明: 云南中医学院, 2015.
- [36] 王慧菊. 制黄草乌乙酸乙酯部位中非生物碱类化学成分的研究 [D]. 昆明: 云南中医学院, 2015.
- [37] 王艳. 黄草乌药材非生物碱成分及其炮制前后对比研究 [D]. 昆明: 云南中医学院, 2016.
- [38] 林凌云, 陈巧鸿, 王锋鹏. 去甲二萜生物碱的药理作用 [J]. 华西药学杂志, 2004, 19 (3): 200-205.
- [39] Friese J., Gleitz J., Gutser U. T., et al. *Aconitum* sp. alkaloids: themodulation of voltage-dependent Na⁺ channels, toxicity and antinociceptive properties [J]. European Journal of Pharmacology, 1997, 337 (2-3): 165-174.
- [40] Wang C.-F., Gerner P., Wang S.-Y., et al. Bulleyaconitine A isolated from *Aconitum* plant displays long acting local anesthetic properties in vitro and in vivo [J]. Anesthesiology, 2007, 107 (1): 82-90.
- [41] 刘延青, 丁晓宁, 王应德. 草乌甲素片治疗常见慢性疼痛的临床研究 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2011, 17 (5): 314-315.
- [42] 郭志俊, 段小花, 陈翠玲, 等. 制黄草乌中滇乌碱及其转化产物 8-去乙酰基滇乌头碱药效和毒性的初步研究 [J]. 中国中医药信息杂志, 2015, 22 (5): 60-63.
- [43] 林志共, 蔡文, 唐希灿. 滇乌碱的抗炎和镇痛作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1987, 2 (1): 93-99.
- [44] 王华灵, 韩培秀, 徐世明. 乌头碱对癌症疼痛的治疗效果 [J]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14 (4): 219.
- [45] Hikino H., Konno C., Takata H., et al. Anti-inflammatory principles of *Aconitum* roots [J]. Journal of Pharmacobio-dynamics, 1980, 3 (10): 514-525.
- [46] 唐希灿, 林志共, 蔡文. 3-乙酰乌头碱的抗炎作用 [J]. 药理学学报, 1984, 5 (2): 85.
- [47] 陈信义, 李峨, 侯丽, 等. 乌头类生物碱研究进展与应用前景评述 [J]. 中国中医药信息杂志, 2004, 11 (10): 922-923.
- [48] 张源潮, 杨清锐, 尹宏恩, 等. 草乌甲素治疗骨关节炎及类风湿关节临床观察 [J]. 中药药理与临床, 2000, 16 (2): 43-45.
- [49] 李晓玉, 蒋开明, 林子英. 滇乌碱的免疫调节作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1987, 2 (1): 100-104.
- [50] 刘太华, 刘德芳, 汪晓军, 等. 乌头碱与新乌头碱对巨噬细胞 RAW264.7 的作用研究 [J]. 西南国防医药, 2009, 19 (12): 116.

- [51] Gao T.-T., Bi H.-T., Ma S., *et al.* The antitumor and immunostimulating activities of water soluble polysaccharides from Radix Aconiti, Radix Aconiti Lateralis and Radix Aconiti Kusnezoffii [J]. *Natural Product Communications*, 2010, 5 (3): 447-455.
- [52] 陆叶, 韩立, 力弘, 等. 草乌甲素对 Balb/c 小鼠的部分免疫功能的抑制作用 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2007, 26 (10): 755-758.
- [53] Wada K., Hazawa M., Takahashi K. *et al.* Inhibitory effects of Diterpenoid alkaloids on the growth of A172 Human malignamnt cells [J]. *Journal of Natural Products*, 2007, 70 (12): 1854-1858.
- [54] Wada K., Ohkoshi E., Zhao Y., *et al.* Evaluation of Aconitum ditexpenoid alkaloids as antiproliferative agents [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015, 25 (7): 1525-1531.
- [55] 饶朝龙, 彭成. 乌头类生物碱对 ras 基因表达影响及其抗肿瘤分子机制研究 [J]. *现代预防医学*, 2010, 37 (6): 1098-1103.
- [56] 李冬. 乌头毒副作用研究 [J]. *中国卫生产业*, 2011, 8 (9): 61.
- [57] 肖凯, 王莉, 刘玉清, 等. 草乌的体外胚胎发育毒性研究 [J]. *毒理学杂志*, 2007, 04: 317.
- [58] 宋东江, 陆满文, 李汉青. 乌头碱类化合物毒理学研究概况 [J]. *中国毒理学通报*, 1989, 5 (5): 272-273.
- [59] 刘学湘, 严维维. 不同煎煮时间内生草乌中乌头碱含量变化研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2013, 20 (9): 47-48.
- [60] 柴玉爽, 王玉刚, 花雷, 等. 附子乌头草乌及其炮制品的毒效比较 [J]. *世界科学技术 (中医药现代化)*, 2011, 13 (5): 847-851.

作者简介

李一果

1973 年生, 博士研究生. 研究方向为药用植物资源开发利用及遗传育种工作.

E-mail: liyigu73@126.com

李昆志

1963 年生, 教授. 研究方向为植物分子生物学与中药材资源研究.

E-mail: likzkm@163.com