

草乌化学成分分离及对党参虫害杀虫研究

许纪龙, 余祥浪

兰州交通大学化学化工学院, 甘肃 兰州

收稿日期: 2025年3月4日; 录用日期: 2025年5月30日; 发布日期: 2025年6月11日

摘要

研究草乌化学成分以及对党参主要虫害的杀虫研究。方法: 采用正相硅胶柱层析、反相硅胶柱层析、大孔树脂柱层析等方法进行化学成分的分离鉴定; 用微量点滴法以及叶片浸渍法进行触杀以及胃毒活性研究。结果: 分离鉴定出四种二萜生物碱, 其中新乌头碱以及苯甲酰乌头原碱表现出较强的触杀活性, LC_{50} 值为0.797 mg/mL和0.676 mg/mL。

关键词

草乌, 二萜生物碱, 触杀活性

Study on the Chemical Components Separation of *Aconitum carmichaelii* and Its Insecticidal Effects on Soil Insects of *Codonopsis pilosula*

Jilong Xu, Xianglang Yu

School of Chemistry and Chemical Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou Gansu

Received: Mar. 4th, 2025; accepted: May 30th, 2025; published: Jun. 11th, 2025

Abstract

The study focused on the chemical constituents of *Aconitum carmichaelii* and their insecticidal activities against the major pests of *Codonopsis pilosula*. Methods: Chemical constituents were isolated and identified by normal phase silica gel column chromatography, reverse phase silica gel column chromatography, and macroporous resin column chromatography. Contact and stomach toxicity were investigated using the micro-droplet method and leaf immersion method. Results: Four diterpene

alkaloids were isolated and identified. Among them, mesaconitine and benzoylaconitine showed strong contact toxicity with LC₅₀ values of 0.797 mg/mL and 0.676 mg/mL, respectively.

Keywords

Aconitum carmichaelii, Diterpene Alkaloids, Contact Killing Activity

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

草乌是毛茛科植物北乌头的干燥块根, 其别名: 草乌头、断肠草、土附子、毒公、竹节乌头、五毒根等。其形状呈不规则长圆锥形, 略弯曲, 长 2~7 厘米, 直径 0.6~2 厘米。主要分布在东北、华北等地, 多生于山地、丘陵草坡、林下或林缘。多项研究表明草乌具有杀虫驱虫生物活性[1], 及抗心律失常[2]、抗炎[3]、抗癌[4][5]、镇痛[6]等药理作用, 其主要活性成分为二萜生物碱, 并且含有少量的黄酮类和其他类化合物。党参为桔梗科党参属多年生草本植物, 是一种常用的中药材, 主要分布于中国的山西、陕西、甘肃、宁夏、青海、四川、云南、贵州等地。具有健脾益肺、养血生津等药用价值。近年来, 在党参种植中, 虫害影响巨大, 主要是二斑叶螨以及蚜虫, 种植户的经济来源以及党参品质受到极大的影响[7]。亟需开发出一款高效绿色的生物源农药进行防治, 本文从乌头中分离出四种化合物, 对二斑叶螨以及蚜虫进行触杀和胃毒活性的研究。

2. 材料与方法

2.1. 材料来源

二斑叶螨以及蚜虫均从甘肃省定西市渭源县党参植株上采取, 培养在兰州交通大学科创绿农星创天地。

2.2. 实验方法

2.2.1. 草乌化学成分提取分离

将采收的草乌(8 kg)粉碎, 用甲醇浸泡提取三次, 每次七天, 减压浓缩, 得到甲醇提取物 0.8 kg。将甲醇提取物溶解于 50℃ 热水中, 用石油醚粗提取三次。得到石油醚提取物 X (77.65 g)。剩余水相加入 2% 盐酸溶液调至 pH = 1~3 呈酸性。用二氯甲烷提取三次, 减压浓缩。得到二氯甲烷酸提取物 Y (25.96 g)。剩余水相加入 2% 氢氧化钠溶液调 pH = 11~13 成碱性, 用二氯甲烷提取 3 次, 减压浓缩, 得二氯甲烷碱提取物 Z (24.38 g); 二氯甲烷酸提取物 Y (25.96g)经大孔树脂柱层析分离洗脱, 洗脱液以不同比例(30%、50%、80%、100%甲醇)梯度洗脱, 得 Fr.(A~D)。利用活性追踪的方式进行后续分离, 进一步采用常规硅胶柱层析分离 Fr.A (2.3 g)片段, 以二氯甲烷: 甲醇 200:1~20:1 梯度洗脱, 经薄层层析、碘化铋钾显色法分离得到 FrA1 (200 mg)。Fr.A1 经葡聚糖凝胶层析分离得到化合物 1。Fr.B (11.96 g)进行反相硅胶柱层析, 以甲醇: 水(0%~100%)进行梯度洗脱得到组分 Fr.B1~Fr.B5。Fr.B1 (3.1 g)经过正相硅胶柱层析洗脱, 以二氯甲烷: 甲醇(200:1~30:1)洗脱得到化合物 2。Fr.B2 (1.46 g)经过正相硅胶柱层析洗脱, 以二氯甲烷: 甲醇(100:1~10:1)洗脱得到化合物 3。Fr.B3 (1.22 g)经过正相硅胶柱层析洗脱, 以二氯甲烷: 甲醇(80:1~15:1)洗脱得到化合物 4。

2.2.2. 对二斑叶螨以及蚜虫触杀活性测定

采用毛细管微滴法开展实验。首先, 将 Fr.B 溶解于甲醇中, 分别配制成 0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.8 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL 的溶液, 以甲醇作为阴性对照。从笼具里选取一定数量的雌性成虫, 放置在玻璃瓶(高 4.5 cm, 直径 2.5 cm)内, 用于进行活动性测定。在载玻片的一端贴上双面胶带并去掉保护层, 用 0 号刷子挑选颜色、大小、体型一致的活性成虫, 通过双面胶带将其背部粘贴于载玻片上端, 确保成虫能够自由活动, 且不能遮挡其口器和虫足。1 小时后, 把载玻片放置在双目立体显微镜下检查, 剔除有伤、活动性差、粘连性不合格的成虫。使用毛细管将 0.009239 μL 或 0.01164 μL 的药液(同时设置相应溶剂对照)滴在虫体的前胸背板上, 每个浓度各滴 10 只虫, 重复 3 次。之后, 把供试虫放置在温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、湿度约 85% 的培养箱中培养, 24 小时后观察其死亡情况, 判定标准为触杀后能动者存活, 不动者死亡。针对蚜虫的触杀活性测定方法同上。记录螨类和蚜虫的死亡率, 并依据 Abbott 公式对死亡率进行校正, 公式为 $Pt = [(Po - Pc)/(100 - Pc)] \times 100$, 其中 Pt 表示校正死亡率(%), Po 为处理组死亡率(%), Pc 为空白对照组死亡率(%)。

2.2.3. 对二斑叶螨以及蚜虫胃毒活性测定

采用叶片浸渍生物测定法测定了 Fr.B 对二斑叶螨和大豆蚜的胃毒活性。将 Fr.B 溶于甲醇中, 蒸馏水为稀释剂。分别测定 0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.8 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL 浓度的胃毒活性。将直径为 2 cm 的豆叶浸泡在一定浓度的化学药剂中 20 s, 将叶子放在玻璃培养皿(9 cm)中晾干。对照组也按上述方法浸泡和晾干。将 30 只活力旺盛的雌性成年螨饥饿 24 小时后放在干燥的叶子上。每个浓度都进行处理。观察 24 h、72 h 后的死亡率, 触杀者移动活, 不动者死亡, 记录螨虫死亡率, 计算并校正死亡率。对蚜虫(*A. glycines* Matsumura)的触杀活性同上。死亡率采用 Abbott 公式进行校正, $Pt = [(Po - Pc)/(100 - Pc)] \times 100$ Pt 为校正死亡率(%), Po 为处理组死亡率(%), Pc 为空白对照组死亡率(%)。

3. 结果与讨论

3.1. 化合物结构鉴定

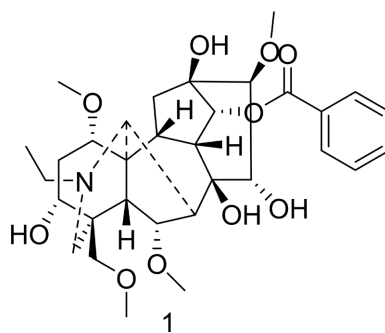


Figure 1. Chemical structure of mesaconitine

图 1. 新乌头碱化学结构

化合物 1 (图 1): 新乌头碱, 分子式 $\text{C}_{33}\text{H}_{45}\text{NO}_{11}$, 白色无定形粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 氘代氯仿): 单取代乙酰基 [δH 1.38 3H, s, OCH_3 ; δC 172.6; δC 21.6], 四个甲氧基 [δH 3.16、3.28、3.30 和 3.74 (各 3H, s)]. δC : 83.3, 35.9, 71.4, 43.6, 46.8, 82.6, 44.4, 92.0, 43.8, 41.0, 49.6, 34.3, 74.2, 79.0, 79.0, 90.2, 61.2, 76.6, 50.1, 42.6, 56.5, 58.1, 62.3, 59.3, 172.6, 21.6, 166.3, 129.9, 129.8, 129.7, 133.5。这与文献中的数据一致[8]。

化合物 2 (图 2): 苯甲酰乌头原碱, 分子式 $\text{C}_{32}\text{H}_{45}\text{NO}_{10}$, 白色无定型粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 氘代氯仿): 四个甲氧基 [δH 3.33, 3.36, 3.40 和 3.71 (每个 3H, s)] 和一个叠氮乙基 [δH 1.42 (3H, t, $J = 7.2$ Hz)], δC :

81.7, 30.2, 70.7, 44.4, 41.7, 80.7, 51.0, 76.2, 45.4, 80.7, 51.0, 76.2, 45.4, 44.1, 50.1, 37.3, 78.9, 83.1, 80.7, 94.0, 65.4, 78.2, 51.7, 51.3, 11.2, 55.2, 58.2, 61.2, 59.2, 167.6, 131.5, 129.5, 131.0, 134.3。与该文献中数据一致[9]。

化合物 3 (图 3): 乌头碱, 分子式 $C_{33}H_{47}NO_{10}$, 白色无定型粉末。 1H -NMR (500 MHz, 氘代氯仿): 单取代乙酰基 [δH 1.39 3H, s, OCH₃; δC 172.6; δC 21.5], 四个甲氧基 [δH 3.16, 3.26, 3.29 和 3.74 (每个 3H, s)] 和一个叠氮乙基 [δH 1.12 (3H, t, $J = 7.1$ Hz)]。 δC : 82.2, 33.3, 71.5, 43.2, 46.4, 83.4, 44.8, 92.0, 44.2, 40.9, 50.2, 35.8, 74.2, 79.0, 78.9, 90.1, 61.3, 76.8, 47.5, 49.1, 13.2, 56.0, 58.2, 61.3, 59.2, 172.6, 21.5, 167.2, 129.8, 129.7, 128.8, 133.5。与该文献中数据一致[9]。

化合物 4 (图 4): 去氧乌头碱, 分子式 $C_{34}H_{47}NO_{10}$, 白色无定型粉末。 1H -NMR (500 MHz, 氘代氯仿): 单取代乙酰基 [δH 1.37 3H, s, OCH₃; δC 172.6; δC 21.5], 四个甲氧基 [δH 3.16, 3.27, 3.28 和 3.73 (每个 3H, s)]

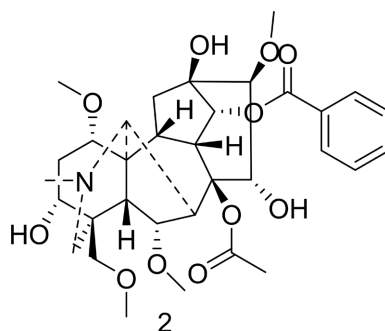


Figure 2. Chemical structure of benzoyleaconine
图 2. 苯甲酰乌头原碱化学结构

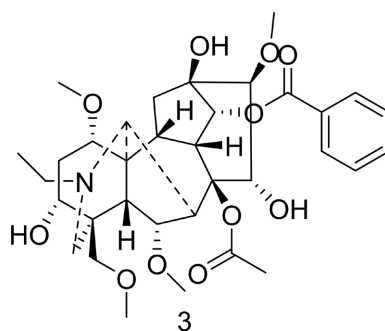


Figure 3. Chemical structure of aconitine
图 3. 乌头碱化学结构

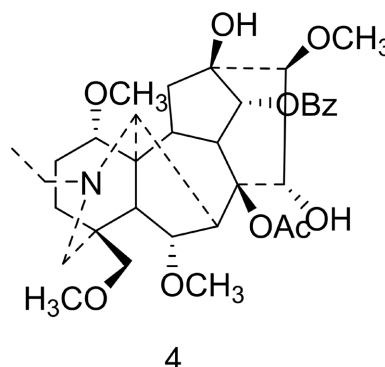


Figure 4. Chemical structure of deoxyaconitine
图 4. 去氧乌头碱化学结构

和一个叠氮乙基[δ H 1.09 (3H, t, $J = 7.1$ Hz)]. δ c: 85.4, 26.5, 35.4, 39.2, 49.2, 83.4, 45.3, 92.3, 44.7, 41.1, 49.4, 36.8, 74.3, 79.0, 79.1, 90.3, 61.5, 80.4, 53.3, 50.1, 13.6, 56.4, 58.2, 61.2, 59.2, 172.6, 21.6, 166.3, 130.0, 129.8, 128.8, 133.4。与该文献中数据一致[10]。

3.2. 对二斑叶螨以及蚜虫的触杀活性研究

二氯甲烷(酸)萃取浸膏组分 Fr.B, 已知化合物新乌头碱和苯甲酰乌头原碱分别对二斑叶螨以及蚜虫进行触杀活性测定, 将 Fr.B 溶解于甲醇中, 分别配制成 0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.8 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL 的溶液, 对二斑叶螨进行触杀活性研究, 得到回归方程, LC_{50} 值以及 95%置信区间。结果如表 1:

Table 1. The stomach poison activity of Fr.B against *Tetranychus urticae*

表 1. Fr.B 对二斑叶螨胃毒活性

试虫	回归方程	LC_{50} (mg/mL)	95%置信区间
二斑叶螨	$Y = 0.2788x + 0.5523$	0.65	0.43~0.87

由表 1 可知, 进行触杀试验, 在试验条件下, 经过 24 小时, Fr.B 组分在 1 mg/mL 浓度下对二斑叶螨的触杀死亡率为 90%; 其线性回归方程为 $Y = 0.2788x + 0.5523$, 95%置信区间为 0.43~0.87, Fr.B 的杀虫活性 LC_{50} 值为 0.86 mg/mL。

Table 2. The contact toxicity activity of Fr.B against aphids

表 2. Fr.B 对蚜虫触杀活性

浓度	1 h		24 h	
	死亡率	校正死亡率	死亡率	校正死亡率
10 mg/mL	86.67%	86.21%	96.67%	96.56%
1 mg/mL	43.33%	41.38%	66.67%	65.57%

由表 2 可知, 不同浓度的 Fr.B 处理 1 小时和 24 小时后的死亡率及校正死亡率。在 10 mg/mL 下, 药剂快速起效且效果显著(24 小时接近完全致死, 校正死亡率为 96.56%)。1 mg/mL 浓度下, 药效随时间增强, 但效果远弱于高浓度组。24 小时后的校正死亡率 65.57%。相比 1 小时, 24 小时的死亡率有较大提升。低浓度组的药效随时间增幅更显著, 可能与药剂作用机制(如缓慢渗透)有关。药剂效果显著依赖浓度, 10 mg/mL 的致死效率是 1 mg/mL 的 2 倍以上。综合以上两点, 该药剂对红蜘蛛的致死效果呈现显著的浓度-时间双依赖, 高浓度下快速高效, 低浓度下需延长作用时间。

将新乌头碱和苯甲酰乌头原碱溶解于甲醇中, 分别配制成 0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL 浓度的溶液, 对二斑叶螨进行触杀活性研究, 得到回归方程, LC_{50} 值以及 95%置信区间。如表 3 所示:

Table 3. The contact toxicity activity of mesaconitine and benzoyleaconine against *Tetranychus urticae*

表 3. 新乌头碱和苯甲酰乌头原碱对二斑叶螨触杀活性

化合物名称	试虫	回归方程	LC_{50} (mg/mL)	95%置信区间
新乌头碱	二斑叶螨	$Y = 0.3053x + 0.53$	0.797	0.4~0.67
苯甲酰乌头原碱		$Y = 0.3557x + 0.56$	0.676	0.4~0.69

由表 3 可知, 新乌头碱和苯甲酰乌头原碱对二斑叶螨都有一定的触杀活性, LC_{50} 值分别为 0.797 mg/mL 和 0.676 mg/mL。在 4 mg/mL 浓度下, 对二斑叶螨的触杀活性最好, 死亡率分别达到 73.3% 和 70%。从 LC_{50} 值可以得知, 苯甲酰乌头原碱对二斑叶螨的触杀活性要高于新乌头碱。

3.3. 对二斑叶螨以及蚜虫的胃毒活性研究

将 Fr.B 溶解于甲醇中, 分别配制成 0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.8 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL 的溶液, 对二斑叶螨进行胃毒活性研究, 得到回归方程, LC_{50} 值以及 95% 置信区间。如表 4 所示:

Table 4. The stomach poison activity of Fr.B against *Tetranychus urticae*

表 4. Fr.B 对二斑叶螨胃毒活性

试虫	回归方程	LC_{50} (mg/mL)	95%置信区间
二斑叶螨	$Y = 37.323x + 64.722$	0.40	0.20~0.85

由表 1 可知, 进行胃毒活性试验, 用蒸馏水作用 24 小时后, 无死亡, 死亡率无需校正; 在实验条件下作用 24 小时后, 浓度为 10 mg/mL 的 Fr.B 组分对二斑叶螨的胃毒死亡率达 92%, 毒力回归方程为 $Y = 37.323x + 64.722$, 95% 置信区间为 0.20~0.85, 其胃毒作用的 LC_{50} 值为 0.4 mg/mL, 具有中等毒性。

将 Fr.B 溶解于甲醇中, 配置成 1 mg/mL 的溶液, 对蚜虫进行胃毒活性研究, 得到其死亡率以及校正死亡率。如表 5 所示:

Table 5. The stomach poison activity of Fr.B against aphids

表 5. Fr.B 对蚜虫胃毒活性

浓度	24 h		72 h	
	死亡率	校正死亡率	死亡率	校正死亡率
1 mg/mL	66.67%	65.57%	76.67%	75.87%

由表 5 可知, 在 1 mg/mL 浓度下, 72 小时后试虫死亡率达 65.57%~75.87%, 表明该药剂对蚜虫具有显著致死效果。随着时间的推移, 胃毒作用越明显, 可能存在时间依赖, 效果逐步显现。

4. 结论

从草乌中分离鉴定出四种二萜生物碱, 新乌头碱, 苯甲酰乌头原碱, 乌头碱, 去氧乌头碱。草乌二氯甲烷酸萃物对二斑叶螨以及蚜虫有较强的触杀以及胃毒活性, 其中新乌头碱以及苯甲酰乌头原碱表现出较强的触杀活性, LC_{50} 值为 0.797 mg/mL 和 0.676 mg/mL。此研究为新型绿色农药的开发提供了可能。

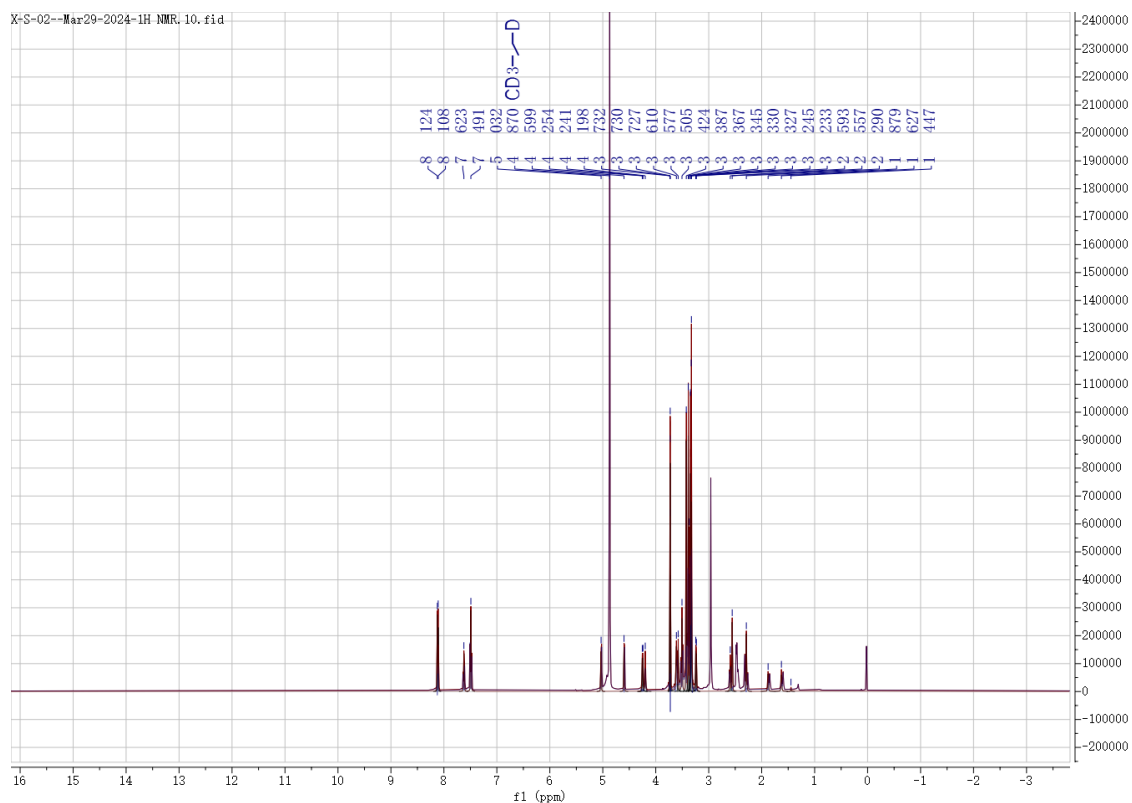
参考文献

- [1] Liu, Y., Zhao, W., Ding, K., Jin, Z., Li, Z. and Li, F. (2019) Synthesis of "Lotus Root"-Like Mesoporous Titanium Dioxide and Its Effects on UV Response to Aconitine Release. *Journal of Alloys and Compounds*, **777**, 285-293. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.10.388>
- [2] Akhiyarov, A.A., Lobov, A.N., Ivanov, S.P., Spirikhin, L.V., Gabbasov, T.M., Tsyrlina, E.M., et al. (2020) Antiarrhythmic Agents Based on Diterpenoid Alkaloid Lappaconitine. Protonation of N-Deacetylappaconitine in Methanol Solutions. *Russian Chemical Bulletin*, **69**, 567-571. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2800-0>
- [3] Guo, R., Guo, C., He, D., Zhao, D. and Shen, Y. (2017) Two New C19-Diterpenoid Alkaloids with Anti-Inflammatory Activity from *Aconitum iochanicum*. *Chinese Journal of Chemistry*, **35**, 1644-1647. <https://doi.org/10.1002/cjoc.201700401>
- [4] Liang, X., Chen, L., Song, L., Fei, W., He, M., He, C., et al. (2017) Diterpenoid Alkaloids from the Root of *Aconitum*

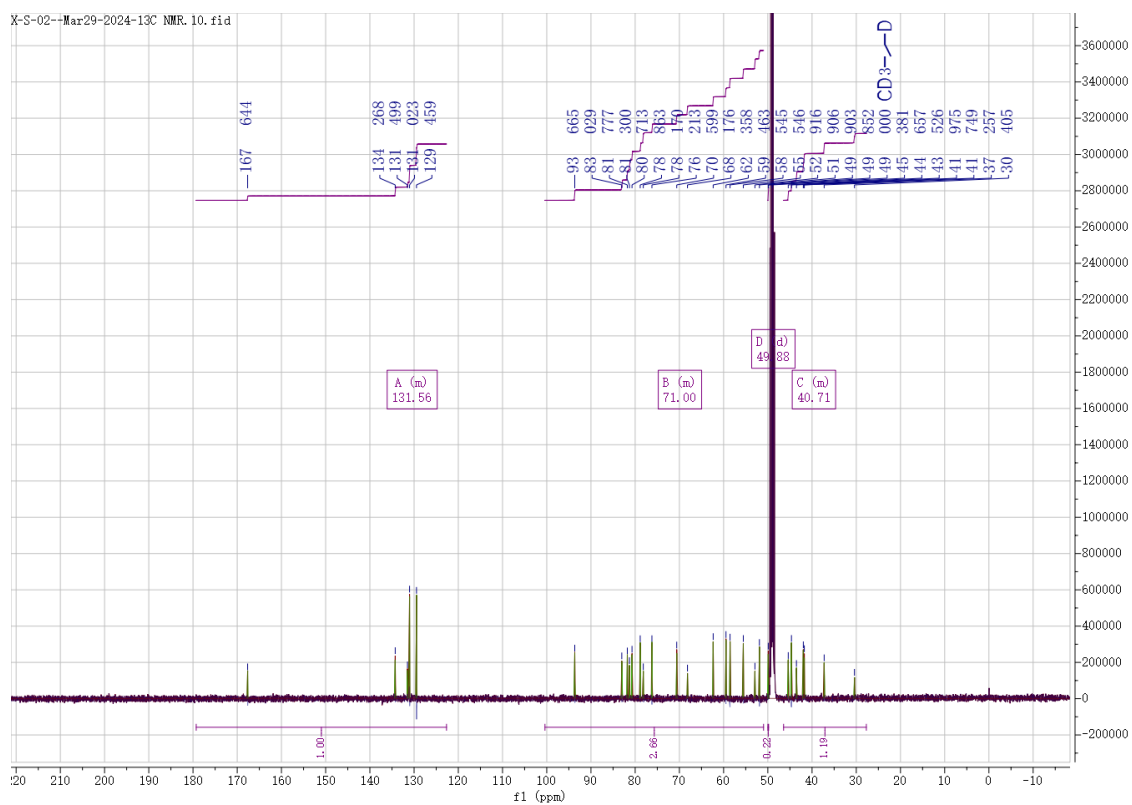
- sinchiangense* W. T. Wang with Their Antitumor and Antibacterial Activities. *Natural Product Research*, **31**, 2016-2023. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1272113>
- [5] Zhao, D., Shi, X., Zhang, L., Yang, D., Guo, H., Chen, Y., *et al.* (2017) Four New Diterpenoid Alkaloids with Antitumor Effect from *Aconitum nagarum* var. *Heterotrichum*. *Chinese Chemical Letters*, **28**, 358-361. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2016.09.012>
- [6] Lee, J., Bae, Y., Kim, N.J., Lim, S., Kim, Y., Kim, J., *et al.* (2022) Anti-Rheumatic, and Analgesic Effects by the Parent Tuberos Roots of *Aconitum Jaluense* in Adjuvant Induced Arthritis Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **289**, Article 114518. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114518>
- [7] 周学毛, 刘杰. 党参虫害防治[J]. 中国基层医学, 1998(2): 59.
- [8] Yu, H. and Liang, T. (2012) A New Alkaloid from the Roots of *Aconitum carmichaeli* Debx. *Journal of the Chinese Chemical Society*, **59**, 693-695. <https://doi.org/10.1002/jccs.201200077>
- [9] Samanbay, A., Zhao, B. and Aisa, H.A. (2017) A New Denudatine Type C20-Diterpenoid Alkaloid from *Aconitum sinchiangense* W. T. Wang. *Natural Product Research*, **32**, 2319-2324. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1410814>
- [10] Hu, J., Li, S., Li, Q., Lv, T., Peng, T., Yin, S., *et al.* (2022) Antinociceptive C₁₉-Diterpenoid Alkaloids from the Roots of *Aconitum nagarum*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **25**, 540-546. <https://doi.org/10.1080/10286020.2022.2109148>

122





化合物 2



化合物 2

Chemical Shift (ppm)	Integration
172	
166	
185	
133	1.00
129	
128	
128	
128	
128	
91	
90	
83	
82	
78	
77	0.96
76	
71	
61	
61	
59	
58	
55	
50	
49	
47	
46	
44	
44	
43	
43	
40	
35	
33	
21	
13	
48	1.34

