

· 专论 ·

# 博落回资源为示范的中药材全产业链 研究与综合利用<sup>△</sup>

曾建国\*

[湖南农业大学 国家中药材生产(湖南)技术中心, 湖南 长沙 410128]

**[摘要]** 博落回为新发掘的农用产品之重要中药资源, 是异喹啉类生物碱尤其是血根碱重要的来源植物, 在欧洲已作为饲用抗生素重要的替代产品来使用(如 Sangrovit), 本文介绍湖南农业大学“兽用中药资源与中兽药创制”国家农业科研杰出人才研究团队从资源生物学、野生变家种、资源化学、品质评价与代谢分析、综合利用开发等方面进行的博落回全产业链研究。

**[关键词]** 博落回; 全产业链

## Applying the Research of *Macleaya cordata* Resources to a Demonstration in the Research and Comprehensive Utilization of Traditional Chinese Medicinal Herbs Full Industry Chain

ZENG Jianguo\*

[Hunan Agricultural University, National Traditional Chinese Medicinal Herbs Production(Hunan) Technical Center, Changsha 410128, China]

**[Abstract]** *Macleaya cordata* is a common traditional Chinese medicinal herb and often used as a kind of home-made pesticide. *Macleaya cordata* is actually an important plant source for isoquinoline alkaloids, especially sanguinarine. In Europe, *M. cordata* has already been used as an important AGP replacement, such as the product of Sangrovit. This article introduces the full industrial chain research of *M. cordata*, which is made by the research team of Hunan Agricultural University from the aspects of resources biology, transition from wild collection to forest cultivation, resources chemistry and comprehensive utilization and development.

**[Keywords]** *Macleaya cordata*; full industry chain

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.002

博落回资源在我国共有两个种, 分别为博落回 *Macleaya cordata* (Willd) R. Br. 和小果博落回 *Macleaya microcarpa* (Maxim.) Fedde, 系罂粟科博落回属植物, 是异喹啉类生物碱(BIAs)血根碱的重要来源植物。作为新发掘的农用产品之重要中药资源, 湖南农业大学“兽用中药资源与中兽药创制”国家农业科研杰出人才团队对博落回展开资源与生态、生物学、育种与栽培、采收及产地初加工、资源化学与提取工艺、品质评价与代谢分析、综合利用等的全产业链研究与开发。

## 1 资源调查与适宜生态因子研究

### 1.1 资源分布调查

博落回主要分布在中国湖南等16个省, 据报道在俄罗斯、德国和日本也有分布<sup>[1]</sup>。为了系统研究博落回和小果博落回的资源分布情况并采集种质资源, 研究团队连续3年分别在全国16个省对博落回和小果博落回野生资源进行调查, 在16个省、71个市(县)中采集博落回(包括小果博落回)样本。博落回(大果)主要分布在湖南、安徽、福建、广东、广

<sup>△</sup> [基金项目] 湖南省重大专项(2012FJ1004)

\* [通信作者] 曾建国, 博士生导师, 教授, 研究方向: 中药资源与中兽药创制等综合利用; Tel: (0731) 84673824, E-mail: zengjianguo@hunau.edu.cn

西、贵州、河南、湖北、江苏、江西、浙江 11 个省, 小果博落回主要分布在甘肃、湖北、河南、山西、陕西、四川、重庆 7 个省, 发现湖北省和河南省同时分布博落回和小果博落回的野生资源。团队共采集了 2000 份大果博落回和小果博落回种质资源(包括种子), 并通过 GPS 和拍照记录了样本博落回和小果博落回的野生居群小环境、生物学性状等指标及其海拔、经纬度等图像和数据。其中将 600 份根移栽到湖南农业大学博落回资源圃中并采集土壤拟进行氮(N)、钾(K)、磷(P)等营养元素和微量金属元素分析。

### 1.2 基于品质的适宜生态因子研究

分别对采集的 2000 份样本的根、茎、叶、果实测定血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱、别隐品碱 4 个代表品质的生物碱, 获得超过 3 万条数据, 以血根碱含量为品质指标筛选优势种质资源 100 份。同时, 本团队还对移栽的 600 份博落回(包括小果博落回)与其在野生环境中生长的果莢生物碱含量进行测定和比对分析, 目的通过屏蔽环境差异前后研究生物碱代谢累积水平与适宜生态因子及遗传因子的关系。整合分析不同生境条件下博落回中生物碱代谢累积量水平及生物量、土壤中相关元素以及生态因子数据(依据国家地理信息数据湿度、日照、降雨等)最后获得博落回种植最佳环境生态因子, 为野生变家种栽培技术提供支持。

### 1.3 形态学研究

初步研究表明, 博落回叶表面被白粉, 通过扫描电镜研究显示为叶片表面长条状蜡质, 表面蜡质与博落回的抗逆性相关, 干旱胁迫下叶片表面蜡质变厚, 气孔表面也开始着生蜡质(见图 1、2)。通过研究显示根为冬季生物碱的存储器官, 并初步推断博落回根中这些生物碱主要累积在根的木栓层组织中(如图 3、4)。

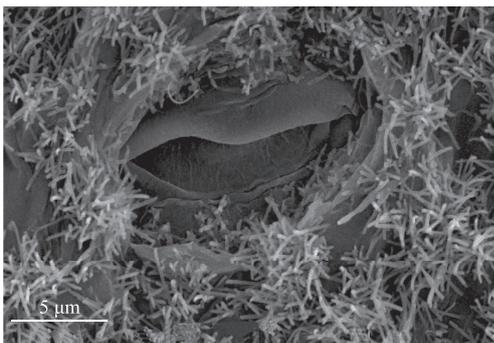


图 1 正常博落回叶片表面

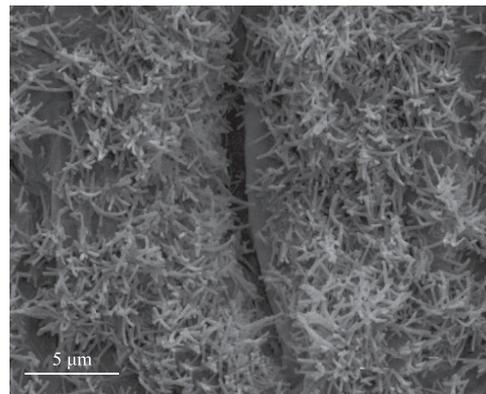


图 2 干旱胁迫下博落回叶片表面

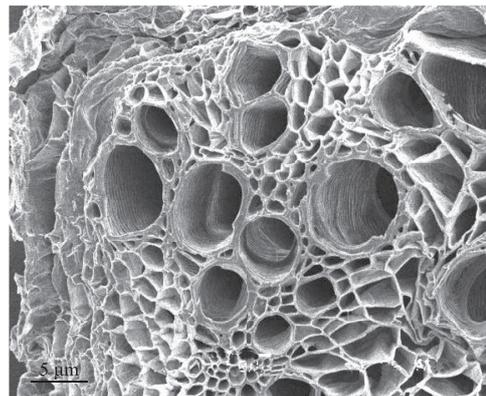


图 3 夏季博落回根

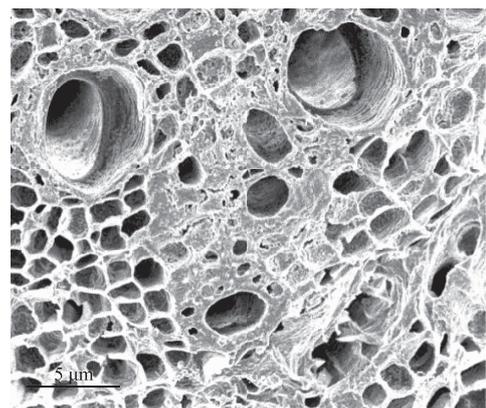


图 4 冬季博落回根

同时, 对博落回茎、花粉和果穗及其他部位进行系列形态观察研究。

## 2 生物学研究

### 2.1 组培研究

建立博落回体细胞再生体系<sup>[2]</sup>, 通过博落回花药离体培养技术培育出了博落回单倍体材料, 为下一步博落回加倍单倍体(DH 系)的构建提供基础数据<sup>[3-4]</sup>, 研究工业化生产博落回毛状根作为 B1As 原

料的可能性。

## 2.2 细胞生物学研究

研究博落回中血根碱的合成转运与贮存规律,通过组织化学染色分析发现血根碱主要存在于博落回根部的中柱鞘外薄壁细胞和导管周围。茎和叶柄中的生物碱主要出现在维管束周围,偶尔也出现在茎的髓细胞中<sup>[5]</sup>。为进一步揭示博落回中血根碱的合成,本团队利用激光显微切割结合 HPLC-MS/MS 等技术,实现生物碱专属及准确的组织化学定位及定量,初步推测博落回根中这些生物碱的合成、转运和积累的组织分别为韧皮部、木质部维管束和木栓层<sup>[5-7]</sup>。

## 2.3 转录组研究

完成了博落回和小果博落回转录组高通量测序<sup>[8]</sup>。通过对不同时间、不同组织进行转录组、蛋白质组和代谢分析,初步探索了博落回属植物的生物碱生源合成机制,并对参与血根碱合成的相关功能基因进行预测,为博落回属植物血根碱通路功能基因克隆和验证提供前期研究基础。

## 2.4 基因组与合成生物学研究

团队与诺基致源合作于2014年完成了博落回全基因组测序、组装,与中国农业科学院蔬菜花卉研究所合作进行基于多组学研究血根碱代谢合成。通过不断筛选候选基因和酵母异源表达,成功找到了参与血根碱与白屈菜红碱生源合成的14个基因;另外基于 Zenk 等<sup>[9-11]</sup>在罂粟中推测的血根碱合成途径,利用同位素示踪技术,从基因组水平确证了该生源合成途径,并发现博落回中可能存在的血根碱和白屈菜红碱生源合成旁路。Martin 将罂粟中血根碱合成通路上的10个基因重组到酿酒酵母中,并能从(R,S)-norlaudanosoline 产生二氢血根碱及其氧化衍生物血根碱<sup>[12]</sup>,团队利用微生物代谢工程技术将博落回中参与合成血根碱和白屈菜红碱的基因导入酵母中构建工程菌,旨在通过快速、高效、低成本合成血根碱与白屈菜红碱,并期望获得更大的有价值的表达效率,为血根碱天然药物的生物制造带来可能。

此外,博落回虽然属于罂粟科植物,我们通过分析博落回基因组注释数据未发现博落回中有合成吗啡的相关基因,也未发现吗啡生物合成必备的多个前体化合物,证明博落回根本不能合成吗啡。以上这些工作以《全基因组视野下研究博落回中 BIAs 生源合成》为题于2017年1月已发表于 *Molecular Plant*<sup>[13]</sup>。

## 2.5 宏基因组学研究

从2015年开始先后采集不同区域、不同品种、不同肠道部位的3000多个鸡肠道内容物样品,完成了500多个组合样测序,构建了超过9.1 M的鸡肠道宏基因组。与中国农业科学院农业基因组研究所和中国农业大学合作,正在采用宏基因组学方法研究血根碱与鸡肠道菌群互作,通过腹泻模型、炎症模型等寻找血根碱对微生物区系的变化和微生物代谢相关情况,从而探讨血根碱调节肠道菌群与抗炎机制。

## 3 育种与栽培技术

### 3.1 常规育种

博落回多处于野生资源状态,利用杂交育种,已选获杂交变异(如三角形果等)品种,还获得博落回和小果博落回其他杂交种(见图5)、不同产地博落回杂交种;通过化学、辐射诱变处理种子诱发博落回基因和染色体畸变,在短时间获得有价值的新突变体,挖掘关键调控基因获得研究样本,以期定向培育高产生物碱或目标生物碱的优良品种。



图5 博落回和小果博落回杂交种

### 3.2 分子辅助育种

在全基因组数据支持下,利用SSR等分子标记技术,对博落回遗传多样性进行研究<sup>[14]</sup>,为今后利用分子标记技术、选育高生物碱含量的博落回提供基础,将选出的优势博落回植株进行杂交,可以拓宽遗传基础,发掘有利基因,从而促进博落回的遗传改良和新品种培育。

### 3.3 野生变家种栽培技术

博落回往往在拓荒烧山和开掘公路时,容易生长。其种子休眠期长,表观看来易种植,实际上野生居群的生长已经实现了对土壤肥力等生境的自然选择,然而规模化家种,其肥力、病虫害却成了

技术瓶颈。为解决野生资源不足的状况,通过开展博落回野生变家种研究和规范栽培推广(见图6),以期解决既提高博落回果荚产量、又提高其品质的技术,在湖南浏阳、新宁以及安徽等地建立博落回种植基地,为博落回作为重要的兽用中药资源实现规模产业化奠定了基础。



图6 博落回野生变家种栽培

### 3.4 采收及产地初加工技术

博落回作为大型多年生草本植物,在生长初期全草能暂时累积一定量的异喹啉类生物碱(BIAs),研究发现采用二茬栽培方法也许是提高栽培效益的手段,即在5月左右割去地上部分,用于提取或其他,对二茬生长结果率影响不大。博落回根其实也是积累BIAs的主要器官,可采挖3年后的根用作原料,残留须根自然可成苗(可能会暂时性影响当年的产量),这一系列的采收方法值得进一步研究。博落回的生物学及产地品质评价等研究应基于鲜博落回药材烘干的产地初加工技术<sup>[15-17]</sup>。

## 4 资源化学与提取工艺研究

### 4.1 质谱导向分离博落回中异喹啉类生物碱

博落回中的BIAs,具有独特的质谱裂解规律。我们研究了苜基四氢异喹啉、阿朴啡、吐根碱、白屈菜、双苜基四氢异喹啉、四氢原小檗碱、*N*-甲基四氢原小檗碱、普罗托品、吗啡、苯酞异喹啉、水仙环素、Anortianamide、苯并菲啶二聚体、二氢苯并菲啶、7,8-二氢原小檗碱、苯并菲啶、原小檗碱、苯并喹啉以及四氢苯并喹啉等19大类生物碱的质谱裂解规律。利用这些质谱裂解规律初步鉴定不同时期博落回属植株根、茎、叶、花、果实中的异喹啉类生物碱,目前共鉴定苜基四氢异喹啉、四氢原小檗碱、*N*-甲基四氢原小檗碱、普罗托品、苯并

菲啶二聚体、二氢苯并菲啶、7,8-二氢原小檗碱、苯并菲啶、原小檗碱、苯并喹啉以及四氢苯并喹啉等11类共151个异喹啉类生物碱,值得一提的是其中包括25个罕见的糖苷类生物碱<sup>[18-20]</sup>。为了更进一步通过核磁共振(NMR)确定这些生物碱的结构,利用质谱作为“眼睛”,结合多维制备液相对博落回属植株中的生物碱进行追踪分离,从2013年至2016年共分离到40余个生物碱(因部分新化合物未发表,故仅列出已发表的化合物)<sup>[21-23]</sup>。对分离得到的生物碱通过1D-NMR、2D-NMR以及高分辨质谱最终确定其结构(见图7)。对于一些具有手性碳的生物碱,为了确定其构型,我们将其培养成晶体,通过晶体衍射的方式确定其构型。以生物碱23与24为例来说明质谱导向分离的过程,在质谱分析的过程中,我们在博落回的根中发现以前从未报道过的质合比: $m/z$  394.1647以及378.1388,通过精确分子量的计算以及二级质谱,我们初步判断这两个化合物为新二氢苯并菲啶类生物碱。我们在质谱的追踪指导下通过反复硅胶柱层析以及半制备液相最终分离到这两个化合物,通过核磁共振以及单晶衍射技术最终确定他们的结构为6位氢被羟乙基取代的二氢苯并菲啶类生物碱消旋体(见图8)<sup>[24-25]</sup>。另外,我们还发现大量的含氨基的生物碱,也许是该植物毒性的重要来源。

### 4.2 结构修饰具有成药性价值的异喹啉生物碱

异喹啉类生物碱具有抗炎、抗菌等广泛的药理活性,因此,除了从博落回属植株中分离异喹啉类生物碱,我们还通过化学合成的方法半合成了60余个包括生物合成通路中的异喹啉类生物碱<sup>[26-28]</sup>(见图7)。与香港浸会大学合作对系列异喹啉类生物碱进行抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗埃博拉、抗HIV以及抗流感的活性筛选,发现化合物血根碱(12)以及二氢血根碱(18)具有非常好的抗脚气真菌的作用,具有开发成一类新药的潜力;生物碱37具有很好的抗埃博拉病毒的作用。

团队还研究发现季铵类苯并菲啶生物碱(QBAs)的季铵正离子中心对化合物的色氨酸脱羧酶(DDC)抑制活性具有重要影响,还原产物二氢苯并菲啶类生物碱不具备DDC抑制活性。构效关系研究表明,QBAs类生物碱母核结构*N*-甲基菲啶盐酸盐同样具有显著的DDC抑制活性,其中含有酚羟基的*N*-甲基菲啶季铵盐衍生物的DDC抑制活性比血根碱有显著提高。*N*-甲基菲啶季铵盐应该是一类新颖的DDC抑制剂<sup>[29]</sup>。

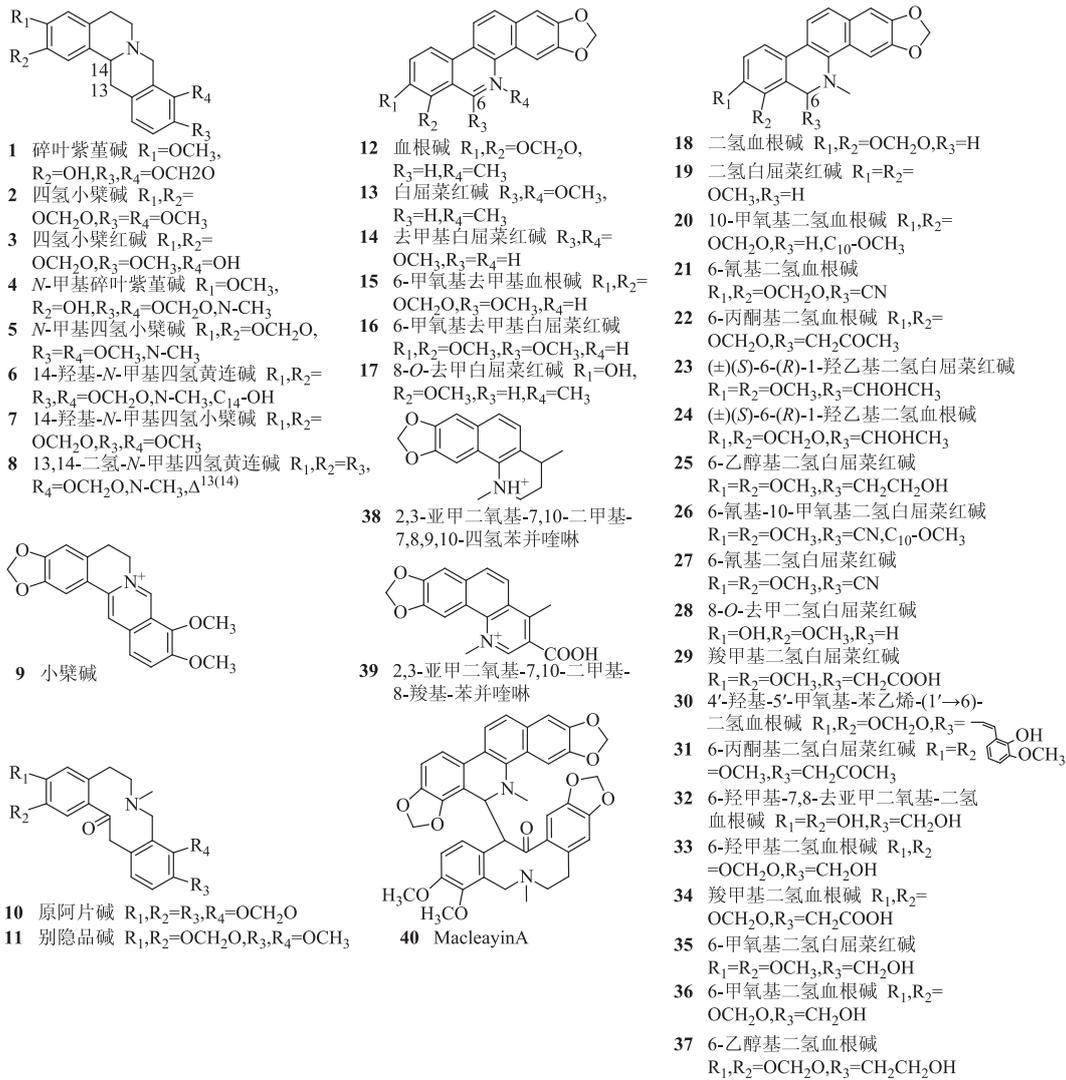


图7 从博落回不同部位中分离到的异喹啉类生物碱

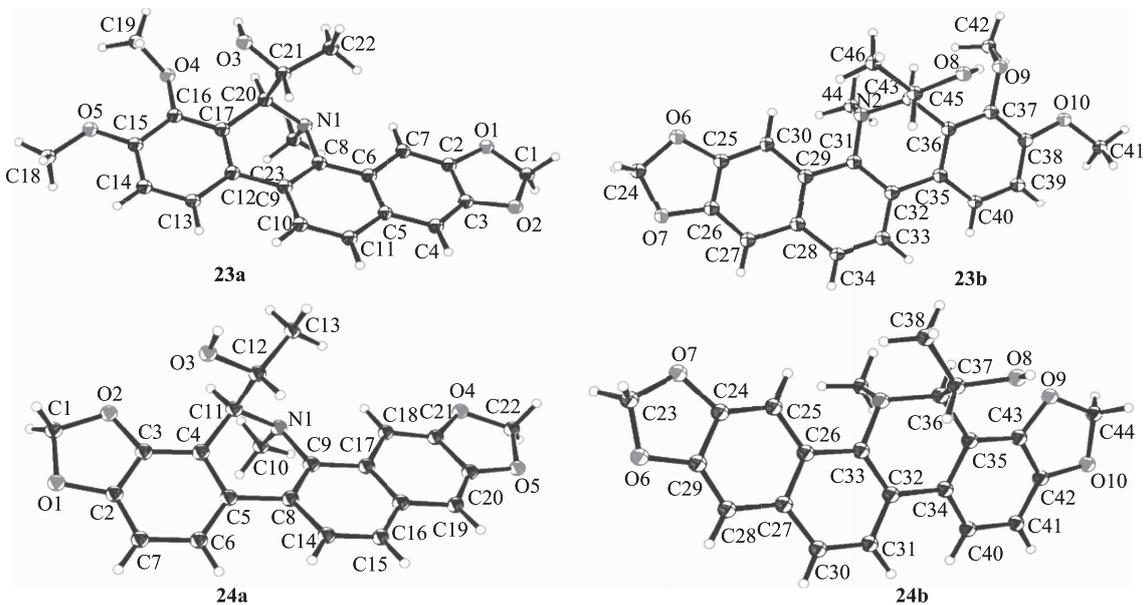


图8 生物碱 23a、23b 与 24a、24b 的单晶图谱

随后,对 QBAs 类生物碱血根碱进行了进一步结构修饰,合成得到全新的 *N*-甲基-2,3,7,8-四羟基苯并菲啶季铵盐 (THQB) (专利申请号:2016110400508)。活性研究表明 THQB 对肠道菌群分泌的多巴脱羧酶 (DDC) 的抑制活性较血根碱提高一个数量级,与商品化的多巴脱羧酶抑制剂比较,该化合物具有全新的作用机制。此外,该化合物对抗链球菌溶血素具有显著的抑制活性,  $IC_{50} = 0.06 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 显示有抗菌药替代品开发前景。目前已基于可见光氧化还原催化策略合成了数十个 QBAs 生物碱衍生物<sup>[26]</sup>。

### 4.3 博落回中主要生物碱标准化提取工艺

血根碱和白屈菜红碱(苯并菲啶类生物碱 QBAs)、原阿片碱和别隐品碱(普罗托品类生物碱 PAs)为博落回中含量最高的两大类生物碱。为了充分利用这两类生物碱,首先基于血根碱与白屈菜红碱开发了相对稳定的 QBAs 的提取工艺(均为季胺碱,以原碱计总含量不低于 60%)<sup>[30]</sup>;在提取 QBAs 同时将水溶性稍好部分利用大孔吸附树脂分离制得普罗托品类总生物碱(Pas 总碱超过 50%)提取物<sup>[31]</sup>,将博落回资源开发出 2 个二类新兽药产品(博落回总碱和博普总碱)。我们可以百千克级工业化生产 98% 纯度的血根碱、白屈菜红碱、原阿片碱和别隐品碱。另外,对叶、根进行标准化提取工艺开发,对果实中的脂肪油进行了超临界萃取工艺研究<sup>[32]</sup>。

## 5 品质评价与代谢分析

### 5.1 博落回原料质量评价标准

为了满足工业生产对博落回原药材质量控制的要求,2009 年制订了博落回叶和博落回果实原料质量的湖南地方标准,从重金属、表观鉴别、生物碱含量等方面控制博落回叶和果实的质量<sup>[33-34]</sup>。

### 5.2 产地溯源及研究

基于 LC-MS 的代谢组学分析方法对湖南娄底、湖南长沙、安徽金寨、福建光泽 4 个不同产地博落回果实进行产地溯源研究,主成分分析(PCA)结果表明 4 个产地博落回果实能够得到很好区分,基于 PLS-DA 建立的产地预测模型可以预测以上 4 个产地博落回果实的来源<sup>[20]</sup>,从基因水平进行溯源研究也是很好的选择。

### 5.3 品种鉴定

利用 DNA 条形码技术对博落回和小果博落回及其杂交种进行鉴定。通过扩增不同产地的博落回和小果博落回及其杂交种 DNA 条形码序列(ITS, *rbcL*, *matK* 等),并对测序结果构建进化树分析,找到最适用于准确鉴别博落回属植物的条形码,为博落回分子育种和品种鉴定奠定研究基础。

### 5.4 药代动力学及体内代谢研究

建立了 HPLC-MS/MS 检测鸡不同组织中检测方法<sup>[35]</sup>,还建立了 HPLC-MS/MS 检测猪肉中苯并菲啶类生物碱的方法<sup>[36]</sup>,研究了猪饲喂美佑壮 90 d 苯并菲啶类生物碱的代谢和残留情况,为博落回作为饲料添加剂的安全性评价提供了科学依据。

系统研究了博落回 4 种主要生物碱的体内外代谢,鉴定了一系列新的代谢产物,揭示了其代谢生成规律,并为血浆和组织残留方法的开发提供了非常重要的指导意义<sup>[37]</sup>。

在大鼠中鉴定了别隐品碱 7 种新的代谢物,原阿片碱 2 种新的代谢物,并证实了这些新的代谢产物在体内也检出<sup>[38]</sup>。

研究阐明了血根碱动物体内转变为二氢血根碱的代谢机制<sup>[39]</sup>,为进一步采用分子生物学技术与手段,对血根碱调控的细胞凋亡的分子机制进行了深入系统的研究,阐明了血根碱还原代谢的主要解毒酶<sup>[40]</sup>。

### 5.5 微量元素与博落回品质关联分析研究

我们用 ICP-MS 测定植株不同部位和根系土壤微量元素和其他元素,并结合其 BIAs 累积量进行整合分析以期发现与品质调控的关联性,博落回对铀 236 有累积特性<sup>[41]</sup>,有望作为铀尾矿的治理。

## 6 综合利用与开发

### 6.1 人类健康领域

博落回中大量的异喹啉类生物碱均表现出良好的抗炎、抑菌、杀虫等活性。在人类健康领域,显示出治疗脚气等真菌感染、外用洗液等产品开发前景。发现博落回提取物有一定的抗肝纤维化作用<sup>[42]</sup>,其机制可能与其保护肝细胞膜、抑制肝星状细胞活性、减轻肝脏炎症及抗脂质过氧化作用等有关;利用季胺碱与黄芩苷葡萄糖醛酸基离子键结合,开展了博落回血根碱-黄芩苷、白屈菜红碱-黄芩苷离

子对化合物的体外抗菌活性和急性毒性研究,研究表明2种离子对化合物的体外抗菌活性增强,毒性减小,为新型抗菌药物的筛选奠定了基础<sup>[43]</sup>;进行了血根碱相关结构修饰物 *N*-甲基-2,3,7,8-四羟基苯并菲啶季铵盐 (THQB) 的成药性研究。

## 6.2 动物健康领域

2012年团队联合湖南美可达生物资源股份有限公司(美可达),成功注册为首个二类中兽药药物饲料添加剂(博落回提取物及博落回散),弥补了国内市场的空白,基于该产品的成功开发提出“整肠,抗炎,促生长”的饲用抗生素替代技术,获得2014年湖南省科技进步奖一等奖。博落回提取物出口德国累计超过数亿元人民币, sangrovit 系列产品在全球超过46个国家和地区使用,随着国内外饲用抗生素逐步限用甚至禁用,相信它将成为重要的替代产品。博落回中的另一组生物碱组分 PAs 相信很快成为另一个二类中兽药产品。系列博落回复方兽药产品正在研制中。

## 6.3 植物健康领域

博落回总生物碱提取物通过美国 EPA 成功登记的 Qwel, 该产品作为杀菌剂,主要用于蔬菜及水果采摘前期的防虫防菌保护,美可达也在农业部获得了田间实验批件,在绿色植物源杀菌剂农药开发方向上颇具应用前景。

## 6.4 其他综合利用

对博落回不同生物碱组分及不同应用领域进行综合利用,开发了不同组分的新兽药和不同应用领域的产品,对博落回植物不同部位也进行综合利用开发。如研究了博落回种子油价值,结果表明博落回种子主要含有8种有机脂肪酸<sup>[32]</sup>,鉴于博落回植株生物量大,对根、茎、叶,尤其是叶的综合利用已显示出其价值,将茎秆粉碎作为有机肥的基质发酵后作用防控线虫病的药用肥料等。对博落回不同化学组分、不同部位和在人类健康、动物健康和植物健康等不同应用领域进行综合利用的研究思路,为中药材资源综合利用开发提供了很好示范。

## 参考文献

- [1] 庄璇. 罂粟科植物的分类、进化与分布[J]. 云南植物研究, 1993(2):137-148.
- [2] 芦强, 彭琼, 李炎林, 等. 不同激素对博落回愈伤组织血根碱代谢累积水平的影响[J]. 湖南农业科学, 2014(9):20-24.
- [3] 宋锡帅, 彭琼, 柳亦松, 等. 博落回花药离体培养及植株再生研究[J]. 湖南农业科学, 2014(7):28-31.
- [4] 宋锡帅. 博落回花药离体培养诱导单倍体植株的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2014.
- [5] 程巧, 乐捷, 曾建国. 药用植物博落回形态与发育解剖学研究[J]. 植物学报, 2015, 50(1):72-82.
- [6] 左姿, 郑亚杰, 梁之桃, 等. 博落回根中生物碱的组织化学定位研究[J]. 中草药, 2016, 47(10):1785-1790.
- [7] Zuo Z, Zheng Y, Liang Z, et al. Tissue-specific metabolite profiling of benzyloquinoline alkaloids in the root of *Macleaya cordata* by combining laser microdissection with ultra-high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2017, 31(5):397-410.
- [8] Zeng J G, Liu Y S, Liu W, et al. Integration of transcriptome, proteome and metabolism data reveals the alkaloids biosynthesis in *Macleaya cordata* and *Macleaya microcarpa*[J]. Plos One, 2013, 8(1):e53409.
- [9] X Han, M Lamshoft, N Grobe, et al. The biosynthesis of papaverine proceeds via (S)-reticuline [J]. Phytochemistry, 2010, 71(11-12):1305.
- [10] G A Beaudoin, P J Facchini. Benzyloquinoline alkaloid biosynthesis in opium poppy [J]. Planta, 2014, 240(1):19-32.
- [11] J M Hagel, P J Facchini. Benzyloquinoline Alkaloid Metabolism: A Century of Discovery and a Brave New World[J]. Plant & Cell Physiology, 2013, 54(5):647-672.
- [12] E Fossati, A Ekins, L Narcross, et al. Reconstitution of a 10-gene pathway for synthesis of the plant alkaloid dihydrosanguinarine in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Nature Communications, 2014, 5:328.
- [13] X Liu, Y Liu, P Huang, et al. The genome of the medicinal plant *Macleaya cordata* provides new insights into benzyloquinoline alkaloids metabolism[J]. Molecular Plant, 2017, 10(7):975-989.
- [14] 朱鹏程, 柳亦松, 黄鹏, 等. 博落回 SSR 引物的开发以及遗传多样性分析[J]. 生命科学研究, 2013, 17(2):120-124.
- [15] 曾建国. 药材鲜用与用鲜药材初加工[J]. 首都医药, 2013(3):48-49.
- [16] 曾建国. 基于鲜药材的中药现代炮制技术[J]. 中草药, 2009, 40(1):1-5.
- [17] 吴周威, 程辟, 刘秀斌, 等. 博落回药材采收及初加工工艺研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(10):860-864.
- [18] Qing Z X, Cheng P, Liu X B, et al. Systematic identification of alkaloids in *Macleaya microcarpa* fruits by liquid chroma-

- tography tandem mass spectrometry combined with the isoquinoline alkaloids biosynthetic pathway[J]. J Pharm Biomed Anal, 2015, 103:26-34.
- [19] Qing Z X, Cheng P, Liu X B, et al. Structural speculation and identification of alkaloids in *Macleaya cordata* fruits by high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry combined with a screening procedure[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2014, 28(9): 1033-1044.
- [20] Qing Z X, Liu X B, Wu H M, et al. An improved separation method for classification of *Macleaya cordata* from different geographical origins[J]. Analytical Methods, 2015, 7(5): 1866-1871.
- [21] Qing Z X, Xu Y Q, Yang P, et al. Mass spectrometry-guided isolation of two new benzoquinoline alkaloids from *Macleaya cordata* [J]. Nat Prod Res, 2016, 30(9): 1030-1035.
- [22] 卿志星. 基于核磁共振与质谱技术解析博落回果荚中生物碱的结构[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2015.
- [23] 康伟松. 博落回微量生物碱的分离纯化与结构鉴定[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2014.
- [24] Yu K, Peng Y, Qing Z X, et al. Two pairs of new dihydrobenzophenanthridine alkaloid isolated from the root of *Macleaya cordata* [J]. Phytochemistry Letters, 2017, 22:9-12.
- [25] Qing Z X, Yang P, Yu K, et al. Mass spectrometry-guided isolation of two new dihydrobenzophenanthridine alkaloids from *Macleaya cordata* [J]. Natural Product Research, 2017, 31(14): 1633-1639.
- [26] Cheng P, Wang B, Liu X, et al. Facile synthesis of tetrahydroprotoberberine and protoberberine alkaloids from protopines and study on their antibacterial activities [J]. Nat Prod Res, 2014, 28(7): 413-419.
- [27] Cheng P, Gu Q, Liu W, et al. Synthesis of quinolin-2-one alkaloid derivatives and their inhibitory activities against HIV-1 reverse transcriptase [J]. Molecules, 2011, 16(9): 7649-7661.
- [28] Liu Z, Huang Y, Xie H, et al. A novel C - C radical - radical coupling reaction promoted by visible light: facile synthesis of 6-substituted N-methyl 5, 6-dihydrobenzophenanthridine alkaloids [J]. RSC Advances, 2016, 6(56): 50500-50505.
- [29] Cheng P, Zhou J, Qing Z, et al. Synthesis of 5-methyl phenanthridium derivatives: a new class of human DOPA decarboxylase inhibitors[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2014, 24(12): 2712-2716.
- [30] 曾建国, 罗炼辉, 谈满良. 一种博落回提取物的制备方法: 200910043045. 6 [P]. 2009-04-03.
- [31] 曾建国. 一种普托品类总生物碱提取物的制备方法: 200810143628. 1 [P]. 2008-11-17.
- [32] 刘秀斌, 柳亦松, 曾静, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取博落回种子油工艺及其主要成分研究[J]. 湖南农业科学, 2012(9): 92-94.
- [33] 湖南省质量技术监督局. 博落回果: DB43/T497 [S]. 2009: 8-9.
- [34] 湖南省质量技术监督局. 博落回叶: DB43/T498 [S]. 2009: 1-8.
- [35] Xie H, Yang J, Feng S, et al. Simultaneous quantitative determination of sanguinarine, chelerythrine, dihydroanguinarine and dihydrochelerythrine in chicken by HPLC-MS/MS method and its applications to drug residue and pharmacokinetic study[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2015, 985: 124-130.
- [36] 冯家岗, 曾建国. HPLC-MS/MS 法检测猪肉中苯并菲啉类生物碱的研究[J]. 中国兽药杂志, 2014, 48(4): 48-51.
- [37] Zhang H H, Wu Y, Sun Z L, et al. Identification of sanguinarine metabolites in pig liver preparations by accurate mass measurements using electrospray ionization hybrid ion trap/time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2013, 27(9): 979-984.
- [38] Huang Y J, Xiao S, Sun Z L, et al. Identification of allocryptopine and protopine metabolites in rat liver S9 by high-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2016, 30(13): 1549-1559.
- [39] Wu Y, Liu Z Y, Cao Y, et al. Reductive metabolism of the sanguinarine iminium bond by rat liver preparations [J]. Pharmacol Rep, 2013, 65(5): 1391-1400.
- [40] Zhang D S, Liu Z Y, Li Y J, et al. NQO1 involves in the imine bond reduction of sanguinarine and recombinant adeno-associated virus mediated NQO1 overexpression decreases sanguinarine-induced cytotoxicity in rat BRL cells [J]. Toxicol Lett, 2014, 225(1): 119-129.
- [41] 丁德馨, 李广悦, 胡南, 等. 一种利用植物修复铀尾矿砂的方法: 200910044229. 4 [P]. 2009-09-01.
- [42] 曾建国, 肖俐, 王宇红, 等. 博落回提取物对实验性肝纤维化的防治作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 134-140.
- [43] 康伟松, 程辟, 曾建国. 血根碱、白屈菜红碱离子对化合物的体外抗菌活性研究[J]. 中南药学, 2014(5): 406-410.

(收稿日期 2017-09-18)