

分子对接技术筛选黑沙蒿中黄酮类化合物的PPAR- γ 激动活性成分

肖音^{1*},肖斌^{2#},赵娜²,张娜²,武心亮³,苏伊新²(1.海口市人民医院药学部,海口 570000;2.内蒙古医科大学鄂尔多斯临床医学院药剂科,内蒙古鄂尔多斯 017000;3.天津市宝坻区人民医院药剂科,天津 301800)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0058-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.15

摘要 目的:从黑沙蒿所含黄酮类化合物中筛选过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ)的激动活性成分,为发现黑沙蒿中抗糖尿病药效物质提供参考。方法:以已知PPAR- γ 激动药罗格列酮为阳性对照,采用分子对接技术对黑沙蒿中已分离得到的18个黄酮类化合物与PPAR- γ 靶点进行一一分子对接,并对化合物与PPAR- γ 靶点的对接亲和力、对接构象等进行分析比较,筛选黑沙蒿中可能的PPAR- γ 激动活性成分。结果:有5个黄酮类化合物呈现了较好的对接亲和力,其中以化合物3(5,3',4'-三羟基-7-甲氧基黄酮)亲和力最高(-8.3 kcal/mol);对接构象分析发现,黄酮类化合物A环与B环上的氧原子易与PPAR- γ 配体结合域活性位点形成1个(Tyr327)或2个(Tyr327、Arg288)氢键结合,这对于黄酮类化合物与PPAR- γ 的结合以及PPAR- γ 构象的稳定起着重要作用。结论:采用分子对接技术进行的虚拟筛选结果表明,黑沙蒿中的黄酮类化合物(大多含有多个自由酚羟基)易与PPAR- γ 形成较好的对接模式与较高亲和力,具有潜在抗糖尿病活性;本研究可为黑沙蒿治疗2型糖尿病的化学成分研究提供参考。

关键词 黑沙蒿;分子对接技术;黄酮类化合物;过氧化物酶体增殖物激活受体- γ ;亲和力;抗糖尿病

Screening of PPAR- γ Agonist Active Ingredient of Flavonoids from *Artemisia ordosica* by Molecular Docking Technology

XIAO Yin¹, XIAO Bin², ZHAO Na², ZHANG Na², WU Xinliang³, SU Yixin²(1.Dept. of Pharmacy, Haikou People's Hospital, Haikou 570000, China; 2.Dept. of Pharmacy, Erdos College of Clinical Medicine, Inner Mongolia Medical University, Inner Mongolia Erdos 017000, China; 3.Dept. of Pharmacy, People's Hospital of Tianjin Baodi District, Tianjin 301800, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To screen the agonist active ingredients of peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ) in flavonoids from *Artemisia ordosica*, and provide reference for finding antidiabetic agents in *A. ordosica*. METHODS: Using known PPAR- γ agonist rosiglitazone as positive control, molecular docking technology was conducted for docking one by one for 18 flavonoids and PPAR- γ targets obtained from *A. ordosica*. It was compared with binding affinities and binding modes of compounds and PPAR- γ targets, and the possible PPAR- γ agonist ingredients in *A. ordosica* were screened. RESULTS: 5 flavonoids showed good docking affinities, in which, compound 3 (5,3',4'-trihydroxy-7-methoxyflavone) showed the highest (-8.3 kcal/mol). Docking mode analysis showed that the phenol oxygen on ring A and ring B of the flavonoids with LBD active site of PPAR- γ formed one (Tyr327) or two hydrogen bonding (Tyr327, Arg288), which played an important role in the binding of flavonoids and PPAR- γ and the stability of PPAR- γ conformation. CONCLUSIONS: Results of virtual screening in molecular docking technology indicate that flavonoids (mostly containing multiple free phenolic hydroxyl groups) in can easily form good docking mode and high affinity with PPAR- γ , showing potential antidiabetic activity. The study can provide reference for further research of chemical ingredients for the treatment of type 2 diabetes.

KEYWORDS *Artemisia ordosica*; Molecular docking technology; Flavonoids; Peroxisome proliferator-activated receptor- γ ; Affinity; Antidiabetic

过氧化物酶体增殖物激活受体(Peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR)是配体激活转录因子核受体家族成员^[1-2], PPAR包括3种亚型: α 、 β/δ 和 γ 。PPAR- γ 系在脂肪组织、巨噬细胞、单核细胞、肠细胞、骨骼肌和内皮细胞中表达最丰富的亚型,在调节胰岛素敏感性、

脂质代谢、脂肪生成和葡萄糖的体内平衡中具有重要作用,成为近十几年来研究热点^[3]。

已知的PPAR- γ 配体类型主要包括2种:生理性配体和药理性配体。生理性配体包括内源性的15-脱氧前列腺素 J_2 及其代谢产物和饮食来源的不饱和脂肪酸等;药理性配体有合成药物噻唑烷二酮类(Thiazolidinedione, TZDs, PPAR- γ 的高效配体)、L-酪氨酸衍生物(PPAR- α/γ 双重激动药)以及不断发现的具有PPAR- γ 激动活性的天然产物和合成产物,其中以曾广泛应用于临床的胰岛素

* 主管药师,硕士。研究方向:临床药学。E-mail: xxyy_614@163.com

通信作者:主管药师,博士。研究方向:药效物质基础、临床药理学。E-mail: michael-bin@163.com

增敏剂TZDs最有名。分子对接是一种计算程序,可根据配体与受体作用的“锁钥原理”用于预测大分子的非共价结合情况。该技术的应用使基于人体靶点的中药天然产物活性成分的高效、快速筛选成为可能^[4-5]。

黑沙蒿(*Artemisia ordosica* Krasch.)为菊科蒿属植物,在前期研究中,笔者对黑沙蒿的资源分布、化学成分及药理活性研究进展进行了综述,结果发现黑沙蒿含有18种黄酮类化学成分^[6]。本研究尝试利用分子对接技术从黑沙蒿所含黄酮类化合物中筛选PPAR- γ 激动活性成分,并预测其与PPAR- γ 的结合模式,旨在从分子水平探究黑沙蒿黄酮类化学成分通过PPAR- γ 产生生理作用的潜在药效物质基础,并进一步为中药化学成分的虚拟筛选提供参考和借鉴。

1 材料

PPAR- γ 蛋白与罗格列酮的X-射线共结晶结构文件来源于RCSB PDB Bank (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics: Protein Data Bank) 数据库 (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>, PDB code: 2PRG); 晶体结构预处理采用分子建模软件包Chimera 1.5.3 (National Institutes of Health, USA); 受体加氢以及grid box (箱格) 设置采用分子建模软件包MGL Tools 1.5.4 (The Scripps Research Institute, USA) 处理; Chem3D Ultra 8.0 软件 (Cambridge Soft Corporation, USA); 分子对接模拟应用对接软件AutoDock Vina 1.1.2 (The Scripps Research Institute, USA); 软件PyMOL v1.5 (Schrodinger LLC, USA; 用于分析和观察配体-蛋白质的对接构象)。

2 方法

2.1 罗格列酮的药效团研究

从RCSB PDB Bank数据库中下载PPAR- γ 与其配体小分子药物罗格列酮的共结晶结构(PDB code: 2PRG)作为分子对接的受体模型。罗格列酮在本研究中作为阳性对照,因此基于共结晶结构2PRG进行了罗格列酮的药效团研究,重点对罗格列酮的拓扑结构、PPAR- γ 的关键螺旋、折叠、氨基酸残基、重要水分子等进行了总结。

2.2 基于PPAR- γ 的分子对接研究

2.2.1 PPAR- γ 的晶体结构及预处理 X-射线衍射得到的靶点的晶体结构与生物体中实际情况往往略有差异,故需进行预处理以接近其生理状态。从2PRG中分离出A链或B链,去除C链以及所有配体和水分子(关键水分子除外),并计算蛋白质的质子化态,备用。

2.2.2 配体构建及预处理 黑沙蒿中已知的18种黄酮类化合物的平面结构采用ChemDraw 软件绘制,通过Chem3D Ultra 8.0 软件将二维结构转换成三维结构数据并使其能量最小化。对配体进行预处理以使配体分子接近天然构象,加载电荷,备用。

2.2.3 对接流程 综合“2.2.1”和“2.2.2”项,对接流程如下:(1)从RCSB PDB Bank数据库中下载PPAR- γ 与配体罗格列酮的共结晶晶体结构(2PRG.pdb),去除C链,分

离A链或B链,制备PPAR- γ monomer(.pdb格式文件); 去除所有配体和水分子(关键水分子除外),根据软件默认方法计算蛋白质质子化态,受体加氢,设置grid box参数,使其覆盖整个PPAR- γ monomer蛋白晶体以探寻所有可能的结合模式。(2)制备待对接配体,将二维结构转换成三维结构数据并使其能量最小化,加载电荷(.pdbqt格式文件)。(3)创建config.txt文件,将对接参数(grid box坐标、exhaustiveness数值)输入其中。(4)将PPAR- γ 与黑沙蒿中所有已知黄酮类化合物进行逐一对接(之前4步为预处理)。(5)根据配体的构象、位置及对接亲和力(软件自动给出)等对各种结合模式进行综合对比。

3 结果

3.1 已知PPAR- γ 与配体罗格列酮的药效团研究

Nolte RT等于1998年报道了由人源PPAR- γ 配体结合域(Ligand binding domain, LBD)、罗格列酮和类固醇受体共激活因子1(Human steroid receptor co-activating factor-1, SRC-1)组成的三元络合物2PRG^[7]。笔者对PPAR- γ 的药效团进行了总结,如图1所示。

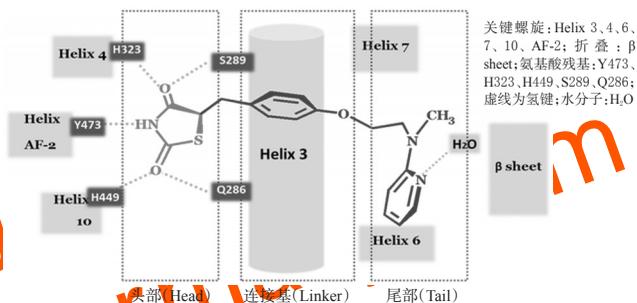


图1 罗格列酮的药效团图示

Fig 1 Pharmacophore of rosiglitazone

PPAR- γ LBD包含一个大的结合口袋,可容纳不同配体进入并形成适当构象从而组成配体-受体复合物。罗格列酮骨架被分为头部(Head)、连接基(Linker)和尾部(Tail)。PPAR- γ 激动药包含有一个亲水性头部Head,通过一个芳香连接基与疏水性尾部相连接。亲水性头部基团通常含有羟基、羰基或羧基氧原子(例如,羧酸和2,4-噻唑烷二酮),可与PPAR- γ LBD的关键氨基酸残基(Tyr473、His449、His323和Ser289)形成氢键(图1中虚线)网络。这些氢键有助于稳定PPAR- γ 于适当的构象,对共激活因子的成功摄取至关重要^[8-9]。芳香中心与关键螺旋Helix 3的多个疏水性氨基酸残基形成范德华力,而疏水性尾部则可允许多种取代基与PPAR- γ 大的疏水性口袋以及自由水分子相互作用^[10]。

3.2 基于PPAR- γ 的分子对接研究

3.2.1 2PRG晶体结构A链和B链的对比、选择 2PRG晶体结构包含了3个不对称分子单元A、B和C(见图2)。本研究去除了C链,对A链和B链进行了分离及与罗格列酮的再对接试验。

A链和B链与配体罗格列酮的结合具有明显的不同,A链缺失了与关键氨基酸残基His449间的氢键结合(见图3a);B链缺失了与Glu286间的氢键结合(见图

3b)。此外,同一软件(Chimera1.5.3)得到的位于PPAR- γ LBD尾部结合口袋的关键水分子(红色球体)也不同。

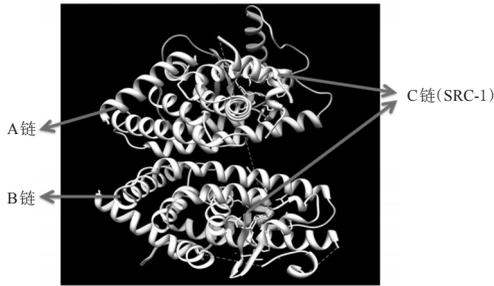


图2 2PRG的结构
Fig 2 Structure of 2PRG

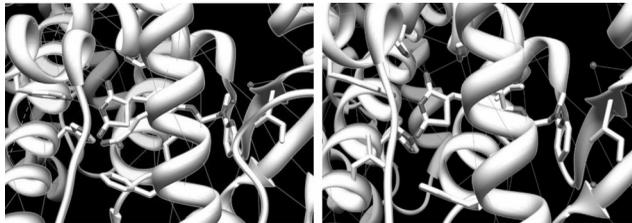


图3 罗格列酮与A、B链的对接图示

Fig 3 Interactions of rosiglitazone with chain A and chain B

分别以A链和B链为靶蛋白受体与罗格列酮进行分子再对接试验后,发现A链再对接结果呈现了所有关键的配体-受体氢键组合。对于B链,大部分的再对接构象缺乏与氨基酸残基His449和Glu286之间的氢键结合。同时,A链被认为与激活态的PPAR- γ 蛋白结构相近^[1]。因此,A链被选定用于PPAR- γ 激动活性成分分子对接试验。

3.2.2 PPAR- γ LBD中水分子的选择保留 PPAR- γ LBD尾部结合口袋未与罗格列酮形成氢键结合,且大的结合口袋允许诸多自由水分子的存在,并与罗格列酮存在范德华力等相互作用,尤其H₂O604(注:604以及后文的308是水分子的标号,此标号为2PRG中固有标号)(见图1中标出的水分子)与罗格列酮分子吡啶环上的N原子形成了氢键结合,这对于罗格列酮在PPAR- γ LBD内构象的稳定起着重要作用。鉴于此,本研究选择了A链PPAR- γ LBD尾部结合口袋内的若干重要水分子进行考察,保留不同的水分子组合进行再对接试验,最终选定H₂O308、H₂O339、H₂O444和H₂O467(A链水分子的标识号在.mol2格式的文件中的编号有所变化,与2PRG中编号有差异,但本研究中选择的相应水分子,随后用PyMOL打开后发现其显示了正常的编号)。此条件生成了与2PRG晶体接近、重现性高并排名第一的结合模式。

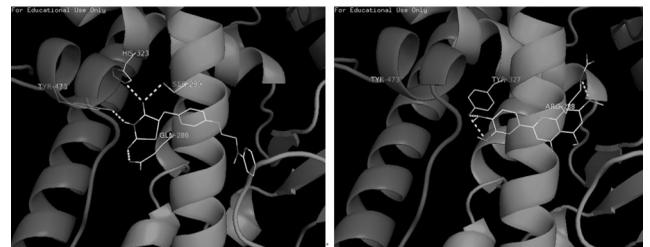
3.2.3 对接结果 将黑沙蒿药材中已知的黄酮类化学成分与PPAR- γ 进行分子对接,根据AutoDock Vina分子对接程序,每个化合物有9个分子对接模式,并按照所有模式的亲和力进行排名。与罗格列酮比较,所有化合物与PPAR- γ 分子对接的亲和力均略低于罗格列酮,从中筛

选得到5个亲和力较高的化合物(亲和力绝对值大于8.0,罗格列酮为-8.7 kcal/mol),其中以化合物3最高(-8.3 kcal/mol)。筛选结果(由对接软件AutoDock Vina自动给出,包括9个构象中最高亲和力、亲和力平均值、9个构象中位于PPAR- γ LBD内的个数、最高亲和力构象与PPAR- γ 形成的氢键结合情况)见表1。

表1 黑沙蒿中PPAR- γ 激动活性成分虚拟筛选结果
Tab 1 Results of virtual screening of PPAR- γ agonist active ingredients from *A. ordosica*

化合物序列	化合物名称	分子式	最高亲和力	亲和力平均值	位于LBD内构象数	形成氢键结合的氨基酸残基
1	5,4'-二羟基-7-甲氧基黄酮		-8.2	-6.8	8	Tyr327 Arg288
2	5-羟基-4',7-二甲氧基黄酮		-8.2	-6.7	4	Tyr327
3	5,3',4'-三羟基-7-甲氧基黄酮		-8.3	-6.7	6	Tyr327 Arg288
4	5,7-二羟基-3',4'-二甲氧基黄酮		-8.2	-6.2	3	Tyr327 Arg288
5	5,7-二羟基-4'-甲氧基黄酮		-8.2	-6.7	7	Tyr327 Arg288
6	罗格列酮		8.7	7.73	8	Tyr473 His323 Gln286 Ser289

3.2.4 PPAR- γ 与配体的结合构象 以得分较高的配体结合构象用来预测PPAR- γ 与激动活性成分的结合模式,罗格列酮、化合物3与PPAR- γ 受体的对接构象如图4所示。



a. 罗格列酮与PPAR- γ b. 化合物3与PPAR- γ

图4 罗格列酮、化合物3与PPAR- γ 的对接构象图示
Fig 4 Docking modes of rosiglitazone, compound 3 with PPAR- γ

罗格列酮与受体的氨基酸残基Tyr473、His323、Gln286、Ser289形成4个氢键结合(虚线表示,见图4a),得分最高的化合物3与受体的Tyr327、Arg288形成2个氢键结合(虚线表示,图4b)。筛选出的其他化合物与化合物3相似,化合物中的A环与B环上的氧原子均易与PPAR- γ LBD活性位点形成1个(Tyr327)或2个(Tyr327、Arg288)氢键结合。分析可知,这些化合物均对PPAR- γ LBD活性位点,占据其结合腔,氢键结合将PPAR- γ 的若干Helix固定,形成稳定的构象,对于

PPAR- γ 进一步与靶基因结合以及PPAR- γ 受体的激活起着重要作用^[12]。所有化合物与罗格列酮的结合模式均不同(如形成氢键结合的氨基酸),提示对接亲和力及激动活性与罗格列酮有所不同。而对PPAR- γ 受体的激动活性尚需体内外活性研究进行验证。

4 讨论

(1)分子对接用于预测小分子与蛋白的结合具有特殊的意义,可以用来进行类药分子的虚拟筛选,以获得药物开发的先导化合物,也可用于缺少实验数据的已知结合体的构象的预测。迄今为止,采用分子对接技术对中药化学成分进行活性机制研究的报道不多。笔者以黑沙蒿为研究对象,拓展了分子对接技术在中药药效物质基础和中药作用机制研究方面的应用。

(2)本文采用分子对接技术筛选黑沙蒿中PPAR- γ 激动活性成分,得到5种亲和力较高的黄酮类化合物1~5。这些黄酮类化合物有望作为配体与PPAR- γ 受体结合并使之激活,随后与视黄醛X受体 α 形成异二聚体,结合到特异性DNA序列-PPAR特异性反应元件而活化靶基因^[13-15]。同时,这5种黄酮类化合物可能会成为PPAR- γ 激动药的先导化合物,值得进一步研究。

(3)配体最佳对接模式的选择不仅需要考虑到对接亲和力,还应结合对接模型的构象观察^[16-18]。此外,分子对接模拟的应用局限于前期研究,对化合物的进一步活性测试依然是必要的。

(4)分子对接模拟是一种成本较低的虚拟筛选技术,对于活性结果的预测具有参考意义。分子对接过程中阳性对照化合物的选择、目标受体蛋白共晶的选择、受体蛋白的处理、对接流程及条件的优化(如本文中晶格结构2PRG中A链、B链与罗格列酮的再对接、grid box参数的设置)对于预测待筛选分子的准确活性至关重要。

综上,采用分子对接技术筛选黑沙蒿中PPAR- γ 激动活性成分的方法可靠,黑沙蒿中5种黄酮类化合物与PPAR- γ 的对接呈现了较高的亲和力,但对接构象与已知PPAR- γ 激动药罗格列酮不同,黄酮类化合物A环与B环上的氧原子易与PPAR- γ 受体的LBD活性位点形成1个(Tyr327)或2个(Tyr327、Arg288)氢键结合(罗格列酮与Tyr473、His343、Gln286和Ser289形成氢键结合),其中以化合物3(5,3',4'-三羟基-7-甲氧基黄酮)对接亲和力最强。本研究为这5种黄酮类化合物与PPAR- γ 靶点的结合以及用于治疗2型糖尿病的化学成分研究提供了参考。

参考文献

[1] ZHU Y, KAN L, QI C, et al. Isolation and characterization of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) interacting protein (PRIP) as a coactivator for PPAR[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(18): 13510-13516.

[2] ISSEMANN I, GREEN S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome pro-

liferators[J]. *Nature*, 1990, 347(6294): 645-650.

[3] SPIEGELMAN BM. PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor[J]. *Diabetes*, 1998, 47(4): 507-514.

[4] 陈亮,王鑫,冯心池,等.分子对接技术筛选石菖蒲中 γ -氨基丁酸转氨酶抑制成分[J].沈阳药科大学学报,2015,32(3):204-207.

[5] EI-HOURI RB, MORTIER J, MURGUEITIO MS, et al. Identification of PPAR γ agonists from natural sources using different in silico approaches[J]. *Planta Med*, 2014, 81(6): 488-494.

[6] 肖斌,白娟娟,戚磊,等.黑沙蒿的资源分布、化学成分及药理活性研究进展[J].中国药房,2016,27(13):1862-1864.

[7] NOLTE RT, WISELY GB, WESTIN S, et al. Ligand binding and co-activator assembly of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma[J]. *Nature*, 1998, 395(6698): 137-143.

[8] WILLSON TM, BROWN PJ, STERNBACH DD, et al. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery[J]. *Med Chem J*, 2000, 43(4): 527-550.

[9] KUHN B, HILPERT H, BENZ J, et al. Structure-based design of indole propionic acids as novel PPAR alpha/gamma co-agonists[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(15): 4016-4020.

[10] XU HE, LAMBER MH, MONTANA VG, et al. Structural determinants of ligand binding selectivity between the peroxisome proliferator-activated receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 13919-13924.

[11] CRONET P, PETERSEN JF, FOLMER R, et al. Structure of the PPAR alpha and -gamma ligand binding domain in complex with AZ 242; ligand selectivity and agonist activation in the PPAR family[J]. *Structure*, 2001, 9(8): 699-706.

[12] PORCELLI L, GILARDI F, LAQHEZZA A, et al. Synthesis, characterization and biological evaluation of ureidofibrate-like derivatives endowed with peroxisome proliferator-activated receptor activity[J]. *J Med Chem*, 2012, 55(1): 37-54.

[13] ADAMS M, REGINAATO MJ, SHAO D, et al. Transcriptional activation by peroxisome proliferator activated receptor γ is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated protein kinase site[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(8): 5128-5132.

[14] JUGE AUBRY CE, GORLA BAJSZCZAK A, PERNIN A, et al. Peroxisome proliferator activated receptor mediates cross-talk with thyroid receptor by competition for retinoid X receptor[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(30): 18117-18122.

[15] GOTTLICHER M, WIDMARK E, LI Q, et al. Fatty acids activate a chimera of the clofibrilic acid-activated receptor and the glucocorticoid receptor[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(10): 4653-4657.

HPLC法测定利尔眠胶囊中3种成分的含量

王雷*, 于荣(山西省心血管病医院药学部, 太原 030024)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0062-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.16

摘要 目的:建立同时测定利尔眠胶囊中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Agilent Zorbax SB-C₁₈,流动相为乙腈-0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(23:77, V/V),流速为1.0 mL/min,检测波长为345 nm(0~20 min,盐酸小檗碱、盐酸巴马汀)和290 nm(>20~30 min,桂皮醛),柱温为30℃,进样量为10 μL。结果:盐酸小檗碱、盐酸巴马汀、桂皮醛进样量检测线性范围分别为0.036 80~0.736 0、0.016 76~0.335 2、0.004 140~0.082 80 μg($r \geq 0.999 5$);检测限分别为0.110 4、0.050 3、0.124 2 ng,定量限分别为0.368 0、0.167 6、0.414 0 ng;精密性、稳定性(12 h)、重复性试验的RSD均<2.0%($n=6$);加样回收率为96.16%~99.73%,RSD为0.99%~1.21%($n=6$)。结论:建立的方法操作简单、重复性好,适用于同时测定利尔眠胶囊中盐酸小檗碱等3种成分的含量。

关键词 利尔眠胶囊;高效液相色谱法;盐酸小檗碱;盐酸巴马汀;桂皮醛;含量测定

Content Determination of 3 Components in Li'ermian Capsule by HPLC

WANG Lei, YU Rong (Dept. of Pharmacy, Shanxi Cardiovascular Hospital, Taiyuan 030024, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for simultaneous determination of 3 components in Li'ermian capsule, including berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and cinnamaldehyde. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Agilent Zorbax SB-C₁₈ with mobile phase consisted of acetonitrile-0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (23:77, V/V) at the flow rate of 1.0 mL/min. The detection wavelengths were set at 345 nm (0-20 min, berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride) and 290 nm (>20-30 min, cinnamaldehyde), and column temperature was 30℃. The sample size was 10 μL. RESULTS: The linear ranges of berberine hydrochloride, palmatine hydrochloride and cinnamaldehyde were 0.036 80-0.736 0, 0.016 76-0.335 2, 0.004 140-0.082 80 μg ($r \geq 0.999 5$). The limits of detection were 0.110 4, 0.050 3, 0.124 2 ng, and the limits of quantitation were 0.368 0, 0.167 6, 0.414 0 ng, respectively. RSDs of precision, stability (12 h) and reproducibility tests were all lower than 2.0% ($n=6$). The recoveries were 96.16%~99.73% (RSD=0.99%~1.21%, $n=6$). CONCLUSIONS: Established method is simple, reproducible and suitable for simultaneous determination of 3 components such as berberine hydrochloride in Li'ermian capsule.

KEYWORDS Li'ermian capsule; HPLC; Berberine hydrochloride; Palmatine hydrochloride; Cinnamaldehyde; Content determination

利尔眠胶囊是由黄连、肉桂两味药材组成的中药复方制剂,具有清心降火、交通心肾的作用,用于心肾不交所致的失眠多梦、心悸不宁^[1-2]等症。其中黄连的主要成分为盐酸小檗碱和盐酸巴马汀,这两种成分具有抗菌、抗炎、抗焦虑、抗抑郁、治疗心血管系统疾病等多种药理作用^[3-4];肉桂的主要成分为桂皮醛,该成分具有镇静、抗炎、解热镇痛、改善心血管疾病、抗菌等药理作用^[5]。利尔眠胶囊载于《国家中成药标准汇编·内科·心系分

册》,标准编号为WS-10171(ZD-0171)-2002^[6],其含量测定采用薄层扫描法测定盐酸小檗碱的含量,方法专属性不强,结果准确性差,且样品处理时间过长,步骤烦琐。目前,有关利尔眠胶囊的质量控制研究亦未见相关文献报道。因此,笔者参考相关文献^[7-13],采用高效液相色谱法(HPLC)建立了同时测定利尔眠胶囊黄连中盐酸小檗碱、盐酸巴马汀,肉桂中桂皮醛含量的方法,以期完善该制剂的质量控制方法提供参考。

[16] WARREN GL, ANDREWS CW, CAPELLI AM, et al. A critical assessment of docking programs and scoring functions[J]. *J Med Chem*, 2006, 49(20):5912-5931.

[17] TAKADA I, YU RT, XU HE, et al. Alteration of a single amino acid in peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPAR alpha) generates a PPAR delta phenotype

[J]. *Mol Endocrinol*, 2000, 14(5):733-740.

[18] YANAGISAWA H, TAKAMURA M, YAMADA E, et al. Novel oximes having 5-benzyl-2, 4-thiazolidinedione as antihyperglycemic agents: synthesis and structure-activity relationship[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2000, 10(4):373-375.

*主管药师,硕士。研究方向:医院药学、药物临床试验。电话:0351-5661206。E-mail:wangleitaiyuan@hotmail.com

(收稿日期:2017-04-24 修回日期:2017-06-13)

(编辑:刘萍)