

• 药剂与工艺 •

陶瓷膜微滤过程中小檗碱与高分子物质相互作用的初步研究

朱华旭^{1,2,3}, 李益群^{2,3}, 徐丽^{2,3}, 姚薇薇^{2,3}, 唐志书^{1*}, 邢卫红⁴, 黄莎莎^{2,3}, 彭静², 李博^{2,3}, 刘红波¹, 郭立玮^{2,3}

1. 陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 211808
2. 南京中医药大学 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023
3. 南京中医药大学 江苏省植物药深加工工程研究中心, 江苏 南京 210023
4. 南京工业大学, 江苏 南京 211800

摘要: **目的** 探究中药水提液中小分子药效物质膜滤过程的变化。**方法** 采用膜滤实验与分子动力学模拟相结合的研究方法, 分析、预测小分子药效物质与中药水提液普遍存在的高分子物质之间的相互作用。首先配制小檗碱+高分子混合模拟溶液, 进行膜分离实验, 以小檗碱透过率、高分子截留率以及两者的吸附率为指标, 分析高分子物质的存在对小檗碱透过率的影响; 再利用分子动力学模拟软件建立模拟体系, 计算小檗碱与高分子物质之间的相互作用, 以分析高分子物质对小檗碱传质过程的影响。**结果** 高分子物质与小檗碱混合后, 小檗碱透过率显著降低; 高分子物质蛋白质、淀粉、果胶与小檗碱之间的总相互作用能分别为-122.723 3、-83.613 0、-125.815 9 kJ/mol, 其中, 淀粉与小檗碱的相互作用能最小, 蛋白质、果胶与小檗碱的相互作用能相差不大。**结论** 在膜分离过程中, 高分子成分与小檗碱之间的相互作用是影响小檗碱传质过程的主要因素, 相互作用的强弱导致小檗碱透过率大小的不同。

关键词: 陶瓷膜; 高分子; 小檗碱; 分子动力学模拟; 相互作用; 微滤; 中药; 膜滤过程; 蛋白质; 淀粉; 果胶; 透过率
中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)18-4250-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.18.008

Preliminary study on interaction between berberine and macromolecule in ceramic membrane microfiltration process

ZHU Hua-xu^{1,2,3}, LI Yi-qun^{2,3}, XU Li^{2,3}, YAO Wei-wei^{2,3}, TANG Zhi-shu¹, XING Wei-hong⁴, HUANG Sha-sha^{2,3}, PENG Jing², LI Bo^{2,3}, LIU Hong-bo¹, GUO Li-wei^{2,3}

1. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization of Shaanxi Province, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 211808, China
2. Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization of Jiangsu Province, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
3. Plant Medicine Research and Development Center, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China
4. Nanjing Technology University, Nanjing 211800, China

Abstract: Objective To explore the effect of macromolecule on the mass transfer process of berberine during membrane separation.

Methods The membrane filtration experiment combined with molecular dynamics simulation were used to analyse and predict the interaction between micromolecule effective substance and the macromolecule commonly existed in the water extract of Chinese material medica. Firstly, the mixed simulation solution of berberine and macromolecule was prepared to carry out the membrane separation experiment. The transmittance and adsorption rate of berberine, the rejection and adsorption rate of macromolecule was

收稿日期: 2018-04-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81673610, 81773919); 中国科学院咨询研究项目(2017-XZ-08); 江苏省科技厅重点研发计划——社会发展面上项目(BE2016754); 江苏省优势学科资助

作者简介: 朱华旭, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事基于化学结构的中药制药分离工程研究。Tel: (025)85811509 E-mail: huaxu72@126.com

*通信作者 唐志书 E-mail: tzs5656@163.com

determined to analyse the effect of macromolecule on the transmittance of berberine in the membrane filtration process. Then, the molecular dynamics simulation software was used to establish simulation system to calculate the interaction between berberine and macromolecule, so as to analyse the effect of macromolecule on the mass transfer process of berberine. **Results** The permeability of berberine was significantly reduced after being mixed with the macromolecule. The total interaction energy between protein, starch, pectin and berberine was calculated as $-122.723\ 3$, $-83.613\ 0$, and $-125.815\ 9$ kJ/mol, respectively. The interaction energy between starch and berberine was minimum, and the interaction energy between protein and berberine was similar as that between pectin and berberine. **Conclusion** In membrane separation process, the interaction between the macromolecule and berberine is the main factor affecting the mass transfer process of berberine, and the strength of the interaction results in the difference in the permeability of berberine.

Key words: ceramic membrane; macromolecule; berberine; molecular dynamics simulation; interaction; microfiltration; Chinese material medica; membrane filtration process; protein; starch; pectin; permeability

徐南平院士^[1]率先将陶瓷膜微滤技术引入中药制药过程取代传统的醇沉工艺,显著提升了生产效率和产品质量^[2-4]。但目前对陶瓷膜分离中药水提液的膜过程机制研究较少,无法从传质原理上阐明中药水提液中药效成分的滤过行为,无法提供药效成分滤过后与原水提液有效性、安全性一致的直接依据,限制了陶瓷膜在中药水提液分离精制中的推广应用^[5-6]。本实验通过膜滤实验与分子动力学(MD)模拟相结合的研究方法,以小分子药效成分(小檗碱)以及中药水提液中普遍存在的共性高分子物质(蛋白质、淀粉、果胶)为实验对象,测试、分析膜滤过程中小檗碱与高分子相互作用的规律,预测小分子药效物质在膜滤过程中可能引起的组成、含量的变化,以期为中药水提液的膜微滤技术的推广应用提供实验依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

陶瓷膜装置,采用错流过滤的方式;陶瓷膜采用 $0.2\ \mu\text{m}$ ZrO_2 单通道内压管式陶瓷膜,外径 12 mm,内径 8 mm,管长 22 mm,膜面积 $0.005\ \text{m}^2$,江苏久吾高科技股份有限公司生产。Waters 2695 高效液相色谱分析仪,美国 Waters 公司,2998 型紫外检测器,Empower 工作站;Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, $5\ \mu\text{m}$),美国安捷伦有限公司;实验室超纯水器,南京易普易达有限公司;Sartorius SQP 型电子天平、Sartorius BL4100 电子分析天平,德国 Sartorius 公司;万用电炉,北京泰和格润仪器有限公司。

1.2 试剂

牛血清白蛋白,批号 10735108001,购自 Biosharp 公司;淀粉,批号 20170220,购自北京索莱宝科技有限公司;果胶,批号 C10086849,购自

上海麦克林生化科技有限公司;盐酸小檗碱对照品,质量分数 86.7%,批号 110713-201212,购自中国食品药品检定研究院;盐酸小檗碱植物提取物,质量分数 98%,批号 20160228,购自南通飞宇生物科技有限公司;甲醇,色谱纯,江苏汉邦科技有限公司;乙腈,色谱纯,美国 Merck 公司产品;水为超纯水;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 高分子模拟溶液的配制

2.1.1 小檗碱模拟溶液 参照黄连解毒汤中小檗碱的质量浓度配制模拟溶液^[7],精密称取含盐酸小檗碱植物提取物 1.027 6 g 置烧杯中,加超纯水 5 000 mL,搅拌并超声 30 min 使其充分溶解,得小檗碱模拟溶液,质量浓度 $201.4\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.1.2 小檗碱+蛋白质模拟溶液(M1) 首先精密称取 25 g 牛血清白蛋白(以下简称蛋白质)于烧杯中,加入超纯水 5 000 mL,充分搅拌并超声 30 min 使其完全溶解,即得质量浓度为 $5.0\ \text{mg}/\text{mL}$ 的蛋白质模拟溶液,再精密称取适量的盐酸小檗碱,加入配置好的蛋白质模拟溶液中,搅拌并超声使其完全溶解,小檗碱在混合模拟溶液中的质量浓度与小檗碱模拟溶液一致,得到 M1。

2.1.3 小檗碱+淀粉模拟溶液(M2) 首先精密称取 25 g 可溶性淀粉,分成 3 份,分别加入 2 L 的烧杯中,加适量超纯水,置于电炉上加热煮沸 10 min,抽滤除去不溶性沉淀物,冷却至室温后定容至 5 000 mL,即得质量浓度为 $5.0\ \text{mg}/\text{mL}$ 的淀粉模拟溶液,再精密称取适量的盐酸小檗碱,加入配制好的淀粉模拟溶液中,搅拌并超声使其完全溶解,小檗碱在混合模拟溶液中的质量浓度与小檗碱模拟溶液一致,得到 M2。

2.1.4 小檗碱+果胶模拟溶液(M3) 配制步骤同

“2.1.3”项。

2.2 陶瓷膜微滤实验研究

将陶瓷膜管装入膜装置中,控制温度为 30 ℃,跨膜压差为 0.15 MPa,首先加入超纯水预压 30 min,之后继续加入超纯水,测定膜的纯水通量,放出超纯水,分别加入小檗碱模拟溶液及 3 种混合模拟溶液 4 500 mL (剩余 500 mL 即为原液),旁路循环至 30 ℃,错流微滤,实时测定模拟溶液的膜

过程通量,待渗透液体积达 2 000 mL 时停止滤过,收集渗透液、截留液备用。每种模拟溶液相同条件下进行 3 次微滤实验。小檗碱模拟溶液及 3 种混合模拟溶液的膜通量 (J) 比较结果见图 1。小檗碱模拟溶液的膜通量远大于混合模拟溶液,在 6 min 时收集到的渗透液达到 2 000 mL,即可停止膜过程。由图 1 可知,小檗碱与 3 种高分子混合后,膜通量迅速降低,大小为 $M1 > M2 > M3$,可见高分子

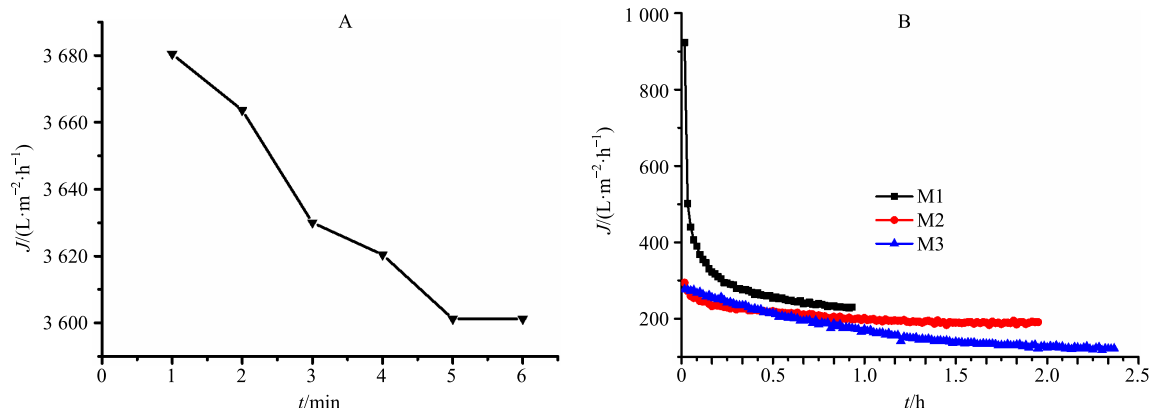


图 1 小檗碱模拟溶液 (A) 和 3 种混合模拟溶液 (B) 的膜通量比较

Fig. 1 Variation of membrane flux of berberine simulated solution (A) and three kinds of mixed simulated solution (B)

对膜通量的影响较大。根据本课题组前期研究结果可知,高分子成分是引起膜污染的主要因素,所以与小檗碱混合后膜通量下降明显。

2.3 高分子截留率、小檗碱透过率及两者吸附率的测定

2.3.1 原液、渗透液、截留液中高分子物质含量的测定 采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量^[8],采用碘显色法测定淀粉含量^[9],采用氯化钙沉淀法测定果胶含量^[10]。高分子截留率与吸附率的计算公式如下。

$$\text{截留率} = 1 - C_S V_S / C_0 V_0$$

$$\text{吸附率} = (C_0 V_0 - C_S V_S - C_J V_J) / C_0 V_0$$

C_0 为原液中高分子物质的浓度, C_S 为渗透液中高分子物质的浓度, C_J 为截留液中高分子物质的浓度, V_0 为原液体积, V_S 为渗透液体积, V_J 为截留液体积

2.3.2 HPLC 法测定小檗碱的含量

(1) 色谱条件与系统适应性条件: Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 以乙腈为流动相 (A), 0.05% 三乙胺-0.1% 磷酸水为流动相 (B), 梯度洗脱: 0~5 min, 10% A; 5~7 min, 10%~20% A; 7~13 min, 20% A; 13~16 min, 20%~30% A; 16~25 min, 30% A; 25~27 min, 30%~10% A;

27~30 min, 10% A; 检测波长 255 nm; 柱温 30 ℃; 体积流量 0.8 mL/min。

(2) 线性关系考察: 精密称取盐酸小檗碱对照品 3.05 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解, 定容至刻度, 即得盐酸小檗碱对照品溶液; 再精密量取盐酸小檗碱对照品溶液 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 即得质量浓度为 26.4 μg/mL 的盐酸小檗碱对照品溶液。分别进样 2、4、6、8、10、15、20 μL, 以峰面积为纵坐标 (Y), 对照品进样量为横坐标 (X), 绘制标准曲线, 得回归方程 $Y = 5 \times 10^6 X - 26 409$, $r^2 = 0.999 8$, 表明盐酸小檗碱在 52.9~528.8 ng 呈良好的线性关系。

(3) 供试品溶液的制备: 精密量取模拟溶液过膜前后的原液、渗透液、截留液各 1 mL, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 过 0.22 μm 的微滤膜, 即得供试品溶液。

(4) 测定方法: 将制备的供试品溶液, 按上述色谱条件分别进样 20 μL, 记录峰面积, 计算得到各样品中小檗碱的含量。小檗碱透过率及吸附率计算公式如下。

$$\text{透过率} = C_S / C_0$$

$$\text{吸附率} = (C_0 V_0 - C_S V_S - C_J V_J) / C_0 V_0$$

C_0 为原液中小檗碱的质量浓度, C_S 为渗透液中小檗碱的质量浓度, C_I 为截留液中小檗碱的质量浓度, V_0 为原液体积, V_S 为渗透液体积, V_I 为截留液体积

2.3.3 高分子物质截留率、小檗碱透过率及两者吸附率的测定结果 3 种混合模拟溶液中高分子物质截留率、小檗碱透过率及两者吸附率的测定结果见表 1、2。由表 1 可以看出, 3 种混合模拟溶液中的高分子截留率、吸附率之间均存在极显著性差异, 可见在混合模拟溶液中, 陶瓷膜对不同高分子的截留作用不同, 其中, 对淀粉的截留作用最小, 对蛋白质的截留作用最大。

由表 2 可知, 小檗碱模拟溶液过膜后, 小檗碱透过率为 $(77.87 \pm 1.40)\%$, 并没有达到 100% 透过,

表 1 高分子物质截留率及吸附率比较

Table 1 Comparison of reject and adsorption rates of macromolecule

模拟溶液	高分子截留率/%	高分子吸附率/%
M1	$93.97 \pm 1.79^{**}$	$30.54 \pm 0.41^{**}$
M2	86.88 ± 1.05	24.34 ± 0.85
M3	$90.77 \pm 0.59^{**}$	$27.33 \pm 0.13^{**}$

不同模拟溶液中的高分子截留率、吸附率与 M2 相比: $^{**}P < 0.01$
 $^{**}P < 0.01$ vs reject and adsorption rates of macromolecule in different mixed simulated solution were compared with that of M2

表 2 小檗碱透过率及吸附率的比较

Table 2 Comparison of transmittance and adsorption rates of berberine

模拟溶液	小檗碱透过率/%	小檗碱吸附率/%
小檗碱	77.87 ± 1.40	21.56 ± 1.40
M1	$72.03 \pm 1.19^{**}$	21.25 ± 1.04
M2	$75.25 \pm 0.59^*$	19.13 ± 1.02
M3	$68.58 \pm 3.80^*$	21.71 ± 2.33

不同模拟溶液中的小檗碱透过率与小檗碱模拟溶液相比: $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

$^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$ vs transmittance and adsorption rates of berberine in different mixed simulated solution were compared with that of berberine simulated solution

推测其原因, 一方面是因为陶瓷膜对小檗碱的吸附作用, 另一方面是因为小檗碱在膜过程中与高分子成分的相互作用。小檗碱与高分子混合后, 与小檗碱模拟溶液相比, 其吸附率均没有显著性差异, 但小檗碱透过率均有显著性差异, 其中 M1 与小檗碱模拟溶液有极显著性差异, 可见高分子对小檗碱膜过程的影响显著。

2.4 分子动力学模拟计算小檗碱与高分子之间的相互作用

2.4.1 模拟操作模型的构建 分别构建小檗碱、蛋白质、淀粉、果胶模型 (图 2), 用 GROMACS 5.1.4

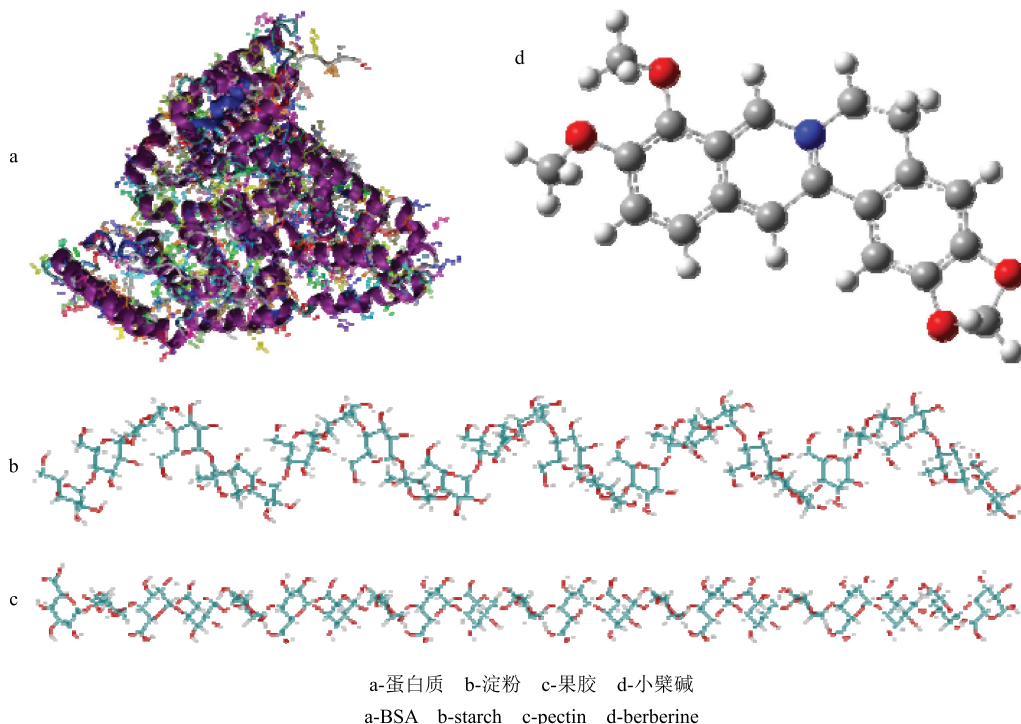


图 2 3 种高分子物质及小檗碱模型示意图

Fig. 2 Diagrammatic sketch of three kinds of macromolecule and berberine models

模拟软件将构建好的蛋白质、淀粉、果胶模型分别放入大小适宜的盒子中，再在每个盒子中随机插入 5 个小檗碱模型，将盒子中填满水分子，即可建成小檗碱+高分子模拟体系，各模拟体系初始构型示意图见图 3，为方便观察，已将水分子省略，各模拟体系相关信息见表 3。模拟体系采用周期性边界

条件进行模拟，使用的力场为全原子力场 (OPLS-AA)，模拟过程中采用宏观正则系综 (NVT 系综)，v-rescale 法控制温度，温度设置为 303 K，耦合的时间常数为 0.01 ps，指定积分算法为蛙跳算法，模拟时间为 10 ns，时间步长为 2 fs。

小檗碱与高分子成分之间的相互作用主要是非

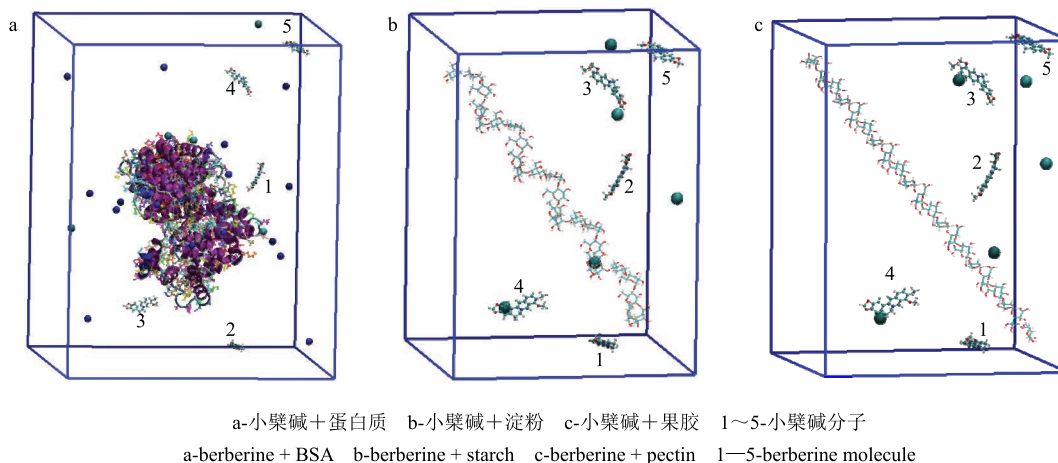


图 3 各模拟体系初始构型示意图

Fig. 3 Diagrammatic sketch of initial configuration of each simulation system

表 3 各模拟体系信息

Table 3 Information of each simulation system

模拟体系名称	盒子大小/nm ³	水分子数	总原子数	Na ⁺ 数	Cl ⁻ 数
小檗碱+蛋白质	11.282×10.878×13.500	50 813	161 895	16	5
小檗碱+淀粉	6.000×6.000×8.000	9 114	28 090	0	5
小檗碱+果胶	6.000×6.000×8.000	9 140	28 063	0	5

键相互作用,包括范德华相互作用和库伦相互作用,其中,范德华相互作用用 Lennard-Jones (LJ) 势能表示,库伦相互作用则用库伦 (Coulomb) 势能表示,两者相加即为小檗碱与高分子的总相互作用能,单位为 kJ/mol。2 个原子间的 LJ 势能 $V_{LJ}(r_{ij})$ 、2 个带电原子间的 Coulomb 势能 $V_C(r_{ij})$ 由以下公式计算得到。

$$V_{LJ}(r_{ij})=C_{ij}^{(12)}/r_{ij}^{12}-C_{ij}^{(6)}/r_{ij}^6$$

$C_{ij}^{(12)}$ 、 $C_{ij}^{(6)}$ 由配对的原子类型决定, r_{ij} 为两配对原子间的距离,其中 12 次方项表示排斥项,6 次方项表示吸引项

$$V_C(r_{ij})=fq_iq_j/\epsilon_r r_{ij}$$

q_i 、 q_j 分别为两配对原子的带电量, r_{ij} 为两配对原子间的距离, ϵ_r 为相对介电常数, f 为转换因子($f=1/4\pi\epsilon_0=138.935 485 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}\cdot\text{e}^{-2}$, ϵ_0 为真空介电常数)

2.4.2 小檗碱与蛋白质之间的相互作用计算结果
由于随机插入的小檗碱分布在不同的位置,与蛋白质的距离不等,所以,在模拟过程中,各个小檗碱

与蛋白质之间的相互作用也不相同。距离蛋白质最近的 1 号小檗碱始终在蛋白质附近徘徊,2 号小檗碱和 5 号小檗碱在运动过程中向蛋白质靠近,最终吸附在蛋白质上,其他 2 个小檗碱没有运动到蛋白质附近,与蛋白质之间几乎没有相互作用。1、2、5 号小檗碱吸附在蛋白质上的构型图见图 4。分别计算小檗碱与蛋白质的 LJ 势能与 Coulomb 势能,将整个模拟过程中各小檗碱与淀粉之间的 LJ 势能与 Coulomb 势能相加,得到两者的总相互作用能,结果见表 4。

分析模拟体系的运动轨迹及小檗碱与蛋白质之间的相互作用能可知,小檗碱与蛋白质之间的吸附形式为物理吸附,以范德华吸附作用为主要吸附作用,在蛋白质上的吸附稳定性较小,吸附与解吸附过程交替出现。比较分析小檗碱与蛋白质之间的最大吸附作用能(表 4),当小檗碱与蛋白质距离为 0.74 nm 时,会产生较小的吸附作用,认为此距离是能

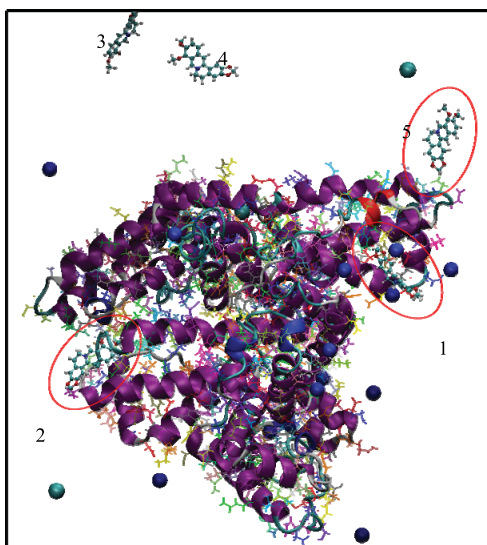


图 4 1、2、5 号小檗碱吸附在蛋白质上的构型图

Fig. 4 Configuration diagram of No. 1, 2, 5 berberine adsorbed on BSA

产生吸附作用的最大距离, 而当距离为 0.81 nm 时, 两者之间的相互作用表现为排斥作用, 此时库伦相互作用占主导地位。2 号小檗碱吸附在蛋白质上时与蛋白质的距离最小, 此时有最大吸附作用, 为 $-122.723\ 3\ \text{kJ/mol}$, 认为这是小檗碱与蛋白质之间在此模拟条件下能产生的最大吸附作用。

2.4.3 小檗碱与淀粉之间的相互作用计算结果 在小檗碱+淀粉模拟体系的模拟过程中, 5 个小檗碱均在淀粉链附近运动, 由于小檗碱与淀粉之间的吸附形式同样为物理吸附, 小檗碱在运动过程中吸附与解吸附速率较快, 因而在不同的时间段有不同的的小檗碱与淀粉产生吸附作用。5 个小檗碱分别与淀粉产生吸附作用时的构型图见图 5。分别计算小檗碱与淀粉的 LJ 势能与 Coulomb 势能, 将整个模拟过程中各小檗碱与淀粉之间的 LJ 势能与 Coulomb 势能相加, 得到两者的总相互作用能, 结果见表 5。

表 4 5 个小檗碱分别与蛋白质之间的最大相互作用能

Table 4 Maximum interaction energy between five berberine and BSA

小檗碱编号	时间/ns	最小距离/nm	LJ 势能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)	Coulomb 势能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)	总相互作用能/($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$)
1	7.80	0.23	-80.751 8	-12.711 5	-93.463 4
2	10.00	0.22	-86.155 2	-36.568 1	-122.723 3
3	8.63	0.74	-0.018 8	-0.001 5	-0.020 3
4	8.18	0.81	-0.001 0	0.002 0	0.001 0
5	8.93	0.25	-44.898 0	-23.748 4	-68.646 4

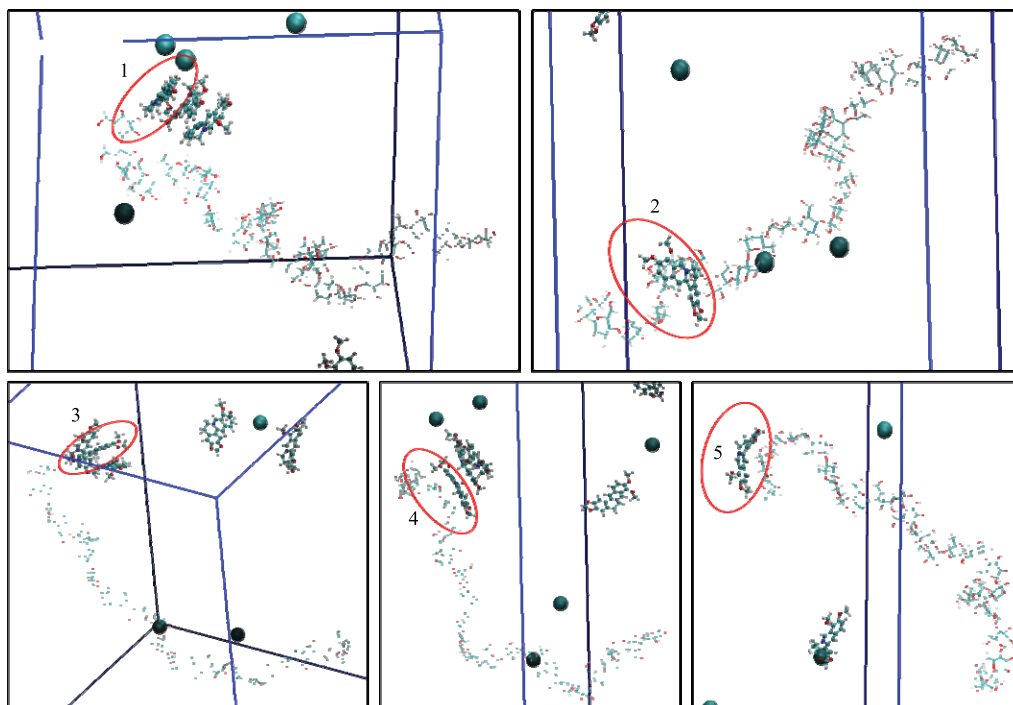


图 5 5 个小檗碱分别与淀粉吸附时的构型图

Fig. 5 Configuration diagram of five berberine adsorbed on starch

分析小檗碱与淀粉的相互作用与两者之间最小距离变化可知，小檗碱与淀粉产生吸附作用时，两者之间的距离基本保持稳定，LJ 势能在整个吸附过程中占主导地位。由表 5 可知，5 个小檗碱均在距离淀粉 0.2~0.3 nm 时有最大吸附作用，结合图 5 分析，当小檗碱的一端距离淀粉较近时（1、3 号小檗碱），吸附作用能较小，且 Coulomb 势能大于 LJ 势能；当小檗碱完全与淀粉吸附时（2、4、5 号小檗碱），两者之间的相互作用能要远大于只有一端吸附时的相互作用能，此时，LJ 势能大于 Coulomb 势能。由此可推测，小檗碱与淀粉的吸附作用不止与两者之间的距离有关，与小檗碱在淀粉上吸附面积也有较大的相关性。4 号小檗碱在吸附时与淀粉的距离最小，吸附面积最大，所以有最大吸附作用能，为-83.613 0 kJ/mol。

2.4.4 小檗碱与果胶之间的相互作用计算结果 观察小檗碱+果胶模拟体系的运动过程，与小檗碱+淀粉模拟体系类似，5 个小檗碱在果胶附近运动，小檗碱与果胶之间的吸附形式同样为物理吸附，在运动过程中小檗碱吸附与解吸附过程交替出现。

5 个小檗碱分别与果胶产生吸附作用时的构型图见图 6。由于周期性的原因，果胶的一端越过盒子边界时就相当于从另一端相应的位置重新进入盒子，因而在图中显示出两段果胶分子链，但实际上果胶并没有断开，仍然是完整的结构，与小檗碱产生的相互作用也是有效的。分别计算小檗碱与果胶的 LJ 势能与 Coulomb 势能，将整个模拟过程中各小檗碱与果胶之间的 LJ 势能与 Coulomb 势能相加，得到两者的总相互作用能，结果见表 6。

小檗碱与果胶的吸附规律与小檗碱与淀粉的吸

表 5 5 个小檗碱分别与淀粉之间的最大相互作用能

Table 5 Maximum interaction energy between five berberine and starch

小檗碱编号	时间/ns	最小距离/nm	LJ 势能/(kJ·mol ⁻¹)	Coulomb 势能/(kJ·mol ⁻¹)	总相互作用能/(kJ·mol ⁻¹)
1	6.16	0.26	-9.619 7	-11.883 8	-21.503 5
2	1.72	0.28	-50.507 3	-8.849 7	-59.357 1
3	5.77	0.28	-3.854 5	-9.092 7	-12.947 1
4	7.05	0.22	-64.431 8	-19.181 2	-83.613 0
5	9.46	0.24	-59.906 2	-7.854 9	-67.761 1

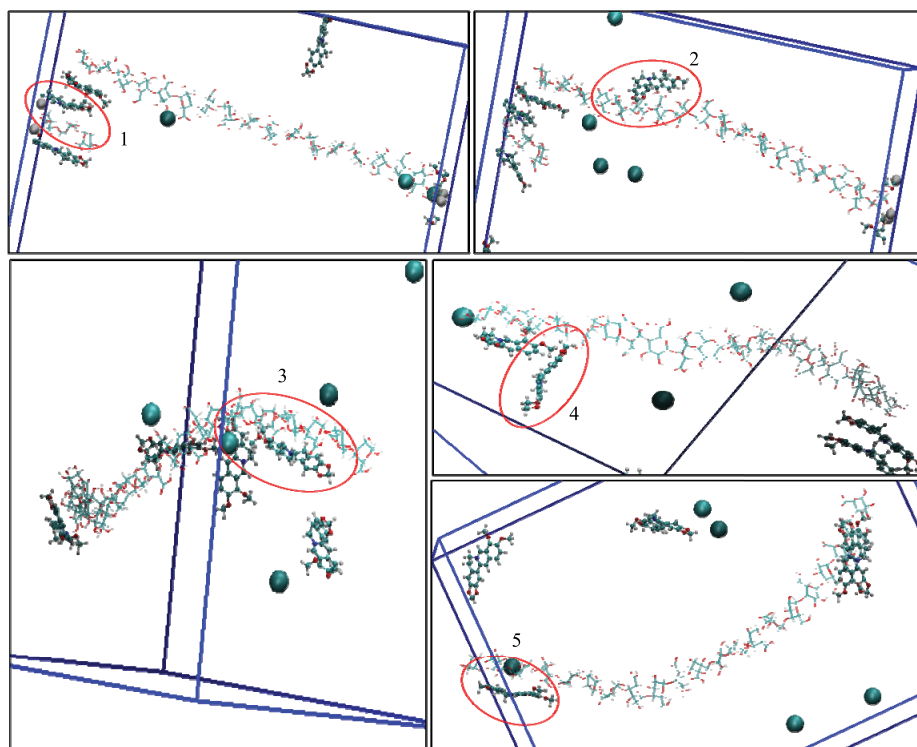


图 6 5 个小檗碱分别与果胶吸附时的构型图

Fig. 6 Configuration diagram of five berberine adsorbed on pectin

表 6 5 个小檗碱分别与果胶之间的最大相互作用能
Table 6 Maximum interaction energy between five berberine and pectin

小檗碱编号	时间/ns	最小距离/nm	LJ 势能/(kJ·mol ⁻¹)	Coulomb 势能/(kJ·mol ⁻¹)	总相互作用能/(kJ·mol ⁻¹)
1	8.53	0.25	-81.846 9	-19.929 8	-101.776 7
2	9.84	0.23	-80.528 2	-27.045 8	-107.574 0
3	6.04	0.23	-94.539 7	-10.845 8	-105.385 5
4	7.78	0.30	-11.035 2	-7.061 9	-18.097 2
5	6.19	0.21	-97.571 6	-28.244 3	-125.815 9

附规律相同, 当小檗碱距离果胶超过一定距离时, 两者之间没有相互作用; 当距离较小到一定大小时, 两者之间即存在相互作用。范德华作用是占总相互作用的比例较大, 是整个吸附过程的主要作用。小檗碱与果胶的吸附作用大小同样受到小檗碱吸附面积的影响, 当小檗碱只有一端吸附在果胶上时, 吸附作用较小; 当小檗碱整个吸附在果胶上时, 吸附作用有最大值, 此规律同样与淀粉相一致。比较 5 个小檗碱与果胶的总相互作用能可知, 5 号小檗碱与果胶有最大的相互作用能, 表现为吸附作用, 为 -125.815 9 kJ/mol, 此时小檗碱距离果胶 0.21 nm。

3 讨论

项目组在前期研究中亦发现, 陶瓷膜微滤技术对于中药水提液的精制具有普遍的适用性^[6,11-13], 但高分子在膜分离过程中能引起严重的膜污染^[3,14], 其中果胶对陶瓷膜的污染最为严重, 小檗碱与高分子混合后, 透过率明显降低, 高分子成分与小檗碱之间的相互作用也是影响小檗碱透过行为的因素之一。利用分子动力学模拟技术计算小檗碱与高分子之间的相互作用可知, 小檗碱与蛋白质、淀粉、果胶之间均存在吸附作用, 最大吸附作用能分别为 -122.723 3、-83.613 0、-125.815 9 kJ/mol, 其中, 蛋白质、果胶对小檗碱的吸附作用相差不大, 淀粉对小檗碱的吸附作用最小。由此推测, 在膜分离过程中, 淀粉对小檗碱的影响较蛋白质、果胶小, 这也与膜分离实验结果一致。

不同的高分子对小檗碱的影响不同, 淀粉对小檗碱的吸附作用最小, 因而淀粉污染层对小檗碱透过率的影响较小, 果胶与蛋白质对小檗碱吸附作用相差不大, 但在膜分离实验过程中蛋白质对小檗碱透过率的影响更为显著, 也就表明, 虽然果胶污染层较蛋白污染层更加致密, 但对小檗碱的影响却没有蛋白质的影响大, 可见其中必然存在其他因素, 需要进一步的研究探讨。

中药水提液是创新药物研究的重要载体。陶瓷膜分离技术具有耐高温、耐腐蚀、机械强度高、使用寿命长等特点, 在中药水提液的分离精制方面具有独特的优势^[11,15]。但目前对陶瓷膜精制中药水提液膜过程的机制研究不够深入系统, 严重制约陶瓷膜在中药领域的推广应用。借鉴材料化学工程的研究技术和研究方法, 本课题组采用实验检测与模拟分析相结合的研究模式, 初步分析了在膜分离过程中高分子对小檗碱透过行为的影响, 表明两者之间的相互作用是影响小檗碱传质过程的主要因素, 为之后进一步研究小分子物质膜分离过程提供一种研究方法, 为深入研究中中药水提液膜分离过程奠定基础。

参考文献

- [1] 徐南平. 面向应用过程的陶瓷膜材料设计、制备与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [2] 李 博, 张连军, 郭立玮, 等. 预处理对黄连解毒汤综合模拟体系陶瓷膜微滤过程的研究 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3147-3153.
- [3] 宋忠兴, 唐志书, 刘红波, 等. 决明子水提液微滤过程中膜通量和膜污染阻力的影响因素研究 [J]. 中草药, 2015, 46(12): 1774-1778.
- [4] 潘林梅, 黄敏燕, 郭立玮. 无机陶瓷膜微滤耦合超声澄清通药酒提取液的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(10): 1631-1634.
- [5] 郭立玮. 中药膜分离领域的科学与技术问题 [J]. 膜科学与技术, 2003, 23(4): 209-213.
- [6] 郭立玮, 邢卫红, 朱华旭, 等. 中药膜技术的“绿色制造”特征、国家战略需求及其关键科学问题与应对策略 [J]. 中草药, 2017, 48(16): 3267-3279.
- [7] 刘 静. 基于多尺度研究方法的中药水提液膜分离传质过程及其机理 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2017.
- [8] 董 洁, 郭立玮, 文红梅, 等. 中药水提液中蛋白质含量测定方法研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2009, 22(6): 40-43.

- [9] 宁正祥. 食品成分分析 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [10] 董洁, 郭立玮, 文红梅, 等. 中药水提液中果胶含量测定方法研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(5): 39-41.
- [11] 曹云台, 郭立玮, 施栋磊, 等. 陶瓷膜应用于中药精制的研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(2): 314-317.
- [12] 伍利华, 黄英, 刘婷, 等. 陶瓷膜分离技术应用于中药口服液的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2014, 37(2): 184-187.
- [13] 武景路, 王青, 祝帆, 等. 陶瓷膜超滤精制金银花水提液的工艺研究 [J]. 现代药物与临床, 2016, 31(2): 148-150.
- [14] 潘永兰. 中药水提液无机陶瓷膜污染基础数据库的建立及数据的关联分析 [D]. 南京: 南京中医药大学, 2009.
- [15] 曹义鸣, 徐恒泳, 王金渠. 我国无机陶瓷膜发展现状及展望 [J]. 膜科学与技术, 2013, 33(2): 1-5.