

# Box-Behnken 响应面法优化马钱子凝胶膏基质处方研究

朱静娟<sup>1,2</sup> 张丽<sup>1</sup> 陆晔辉<sup>2,3</sup> 刘跃<sup>2,3</sup> 曹晓军<sup>2,3</sup>

(1.南京中医药大学药学院,江苏南京 210023; 2.云南白药集团无锡药业有限公司,江苏无锡 214028;  
3.云南白药集团药物创新研发中心,云南昆明 650111)

**摘要** 目的:利用 Box-Behnken 响应面法设计优化马钱子凝胶膏剂的基质处方。方法:以初黏力为评价指标,对马钱子凝胶膏剂处方进行优选。用 Box-Behnken 响应面法对主要因素进行优化,并且进行多元线性回归与二项式方程拟合,预测最佳工艺。结果:聚丙烯酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、甘羟铝对凝胶膏剂的性能影响显著,二项式方程复相关系数  $R^2$  为 0.8883,最佳配比为聚丙烯酸钠 3.0g、聚乙烯吡咯烷酮 2.0g、甘羟铝为 0.5g。结论:Box-Behnken 响应面法优化出来的马钱子凝胶膏基质处方具有很好的黏附性,为马钱子凝胶膏的开发奠定了基础。

**关键词** Box-Behnken 设计 凝胶膏剂 马钱子提取物

**中图分类号** R282.71 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2017)06-0059-03

马钱子为马钱科植物马钱 *Strychnos nux-vomica* L. 的干燥成熟种子,具有通络止痛、散结消肿之功<sup>[1]</sup>,主产印度、泰国和我国云南等地,临床广泛应用于恶性肿瘤、各种疼痛、痹症、神经症、骨伤科疾病、风湿及类风湿关节炎<sup>[2]</sup>。研究发现,马钱子碱具有中枢镇痛作用,其不仅能增加吗啡的镇痛作用,还能延长其镇痛时间<sup>[3]</sup>。近年来,中药经皮给药系统研究和开发得到迅速发展,马钱子经皮给药镇痛因其药效良好、无成瘾性、不良反应少及资源丰富等优势,引起研究者的重视<sup>[4]</sup>。本课题组将马钱子制备成凝胶膏剂经皮给药,以降低马钱子中有毒成分的突释,从而降低其

毒性。本研究针对由马钱子提取物制成的黏性适中、制剂成形性合格的凝胶膏,分别进行制剂基质研究和处方载药量的考察,现将结果报道如下。

## 1 材料

**1.1 药品与试剂** 聚丙烯酸钠 NP-800(昭和电工株式会社);聚乙烯吡咯烷酮 K-90(上海兆衡实业有限公司);交联聚维酮 XL-10(上海兆衡实业有限公司);甘油(上海嘉里油脂);甘羟铝(上海柯豪国际贸易有限公司);酒石酸(浙江兰溪盛打酒石酸有限公司);乙二胺四乙酸二钠 EDTA-2Na(西陇化工股份有限公司)。

- [8] 张菁,高文远,满淑丽.黄芪中有效成分药理活性的研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(21):3203.
- [9] 付成国,文连奎,董然.轮叶党参化学成分与药理作用研究进展[J].中药材,2007,30(4):497.
- [10] 孙有智,刘红宁,朱卫丰,等.“阴虚癌瘤相关”假说的提出及其意义[J].江西中医学院学报,2008,20(4):1.
- [11] 王志学.癌转移的中医药预防思路[J].国医论坛,2000,15(2):22.
- [12] 杨海燕,童彩玲,楚爱景,等.桃红四物汤对乳腺癌血管生成的影响[J].广州中医药大学学报,2012,29(6):623.
- [13] 吴晓.社会心理因素对肿瘤的影响[J].医学综述,2013,19(2):258.
- [14] 董强,刘桂芹,刘建新,等.血府逐瘀汤加味治疗中晚期小细胞肺癌临床研究[J].河南中医,2014,34(9):1758.
- [15] 孙大志,修丽娟,陆晔.魏品康治疗胃癌学术思想并验案

举隅[J].辽宁中医杂志,2010,37(4):600.

- [16] 王文萍,姜良铎,刘明.肿瘤转移“痰毒流注”病机假说的研究思路[J].辽宁中医杂志,2002,29(3):137.
- [17] 罗庆东,王月飞,赵红晔,等.鳖甲煎丸对肝癌荷瘤小鼠肿瘤组织生长及转移的影响[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(14):230.
- [18] 范征吟.全国名老中医颜德馨教授首创“衡法”的学术思想和临床应用[J].上海医药,2001,22(10):466.

**第一作者:**夏宁俊(1987—),男,医学硕士,住院医师,研究方向为中医药治疗恶性肿瘤。

**通讯作者:**王国方,医学士,副主任中医师。  
593166088@qq.com

收稿日期:2017-03-10

编辑:吴宁

1.2 仪器 初黏性测试仪 CZY-6S (济南兰光机电技术发展中心)。

## 2 方法

2.1 Box-Behnken 试验设计-效应面法优化处方评价指标初黏力的测定:采用滚球斜坡停止法测定贴膏剂的初黏力。将适宜的系列钢球分别过置于 30° 倾斜板上的供试品黏性面,根据供试品黏性面能够粘住的最大球号钢球,评价其初黏性的大小。

2.2 凝胶膏剂基质的制备 取适量 NP-800、K-90、XL-10、EDTA-2Na、甘羟铝用甘油分散后作为 A 相,将酒石酸直接分散于水溶液中作为 B 相,将 B 相加入到 A 相中,搅拌混匀,涂于无纺布上,覆盖离型膜,放置即得。

2.3 Box-Behnken 设计中的因素与水平 在单因素试验考察的基础上,固定处方及其制备工艺条件不变,选取对凝胶膏初黏力影响较为显著的 3 个因素设为自变量:NP-800 的用量 (A)、K-90 的用量 (B)、甘羟铝的用量 (C),采用 Design-Expert 8.0.5 软件对这 3 个因素分别在 3 个水平上进行设计,以初黏力 (Y1) 作为响应值,共设计了 17 组试验对方程中各项回归系数进行回归拟合,为减小误差,其中取 5 组中心点,析因部分试验则为 12 组,因素水平见表 1,试验设计及响应值见表 2。

表 1 Box-Behnken 试验设计因素、水平及编码值

因素(处方变量)	编码水平		
	-1	0	1
A NP-800(g)	2	3	4
B K-90(g)	1.5	2.0	2.5
C 甘羟铝(g)	0.3	0.5	0.7

表 2 Box-Behnken 试验设计及响应值

序号	A	B	C	Y1(g)
1	0	1	1	2.66
2	1	0	-1	0.86
3	1	1	0	0.806
4	0	0	0	2.66
5	0	0	0	2.66
6	0	-1	1	1.50
7	-1	-1	0	0.44
8	0	1	-1	2.06
9	0	0	0	2.66
10	-1	0	1	1.50
11	0	-1	-1	0.44
12	0	0	0	2.66
13	1	0	1	2.66
14	1	-1	0	0.702
15	-1	0	-1	1.03
16	0	0	0	2.66
17	-1	1	0	1.50

## 3 数据处理

3.1 R<sup>2</sup> 综合分析 采用 Design-Expert 按照 Box-Behnken 设计的要求对数据采用 Linear、2FI、Quadratic、Cubic 等不同模型拟合处理,以模型拟合方程中的 P 值及 R<sup>2</sup> 为判断标准选择合适的模型,见表 3。

表 3 R<sup>2</sup> 综合分析

模型类型 Model type	P 值	R2
Linear 线性模型	0.1783	0.1454
2FI 双因素	0.8281	-0.0206
Quadratic 二次方程	0.0003	0.8883 Suggested
Cubic 三次方程	<0.0001	1.000 Aliased

Quadratic 模型拟合方程,  $P=0.0003<0.01$ , 有极显著性差异,  $R^2=0.8883$ , 模型拟合度高, 模型理想。故对数据进行 Quadratic 模型拟合, 得到二次多项式回归方程  $Y=2.66+0.07A+0.49B+0.49C-0.24AB+0.33AC-0.11BC-0.98A^2-0.82B^2-0.17C^2$  (二次方程模型  $R^2=0.8883, P<0.0001$ )。A、B、C 分别为 NP-800、K-90、甘羟铝。由表 4 可知, 整体模型达到显著水平 ( $P=0.0008, P<0.05$ ), 表示该二次方程模型比较显著, 失拟值没有显著性, 该方程对实验拟合较好。

表 4 二次方程模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	F 值	P 值
模型	12.18	9	15.14	0.0008*
A	0.039	1	0.44	0.5304
B	1.94	1	21.75	0.0023*
C	1.93	1	21.60	0.0023*
AB	0.23	1	2.56	0.1539
AC	0.44	1	4.95	0.0615
BC	0.053	1	0.59	0.4669

注: \* $P<0.05$ , 差异显著。

3.2 工艺参数预测和优化 根据二次多项回归方程拟合结果, 固定其中一个因素水平, 绘出 Y 与其他 2 个因素的等高线图和三维效应曲面图, 预测凝胶膏的最佳处方配比, 见图 1。效应面图形是响应值对各实验因素所构成的三维空间的曲面图, 从效应面分析图上可以形象地看出最佳参数及各参数之间的相互作用。

从表 4 可以看出, B、C 对凝胶膏剂的黏性有极显著性影响, A、C 之间有微弱的交互作用, B、C、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 有显著性差异, 说明各因素与响应值之间并不是简单的线性关系。

由于三维图仅能表示效应与其中 2 个因素的关系, 因此将另外 1 个因素置为中心值, 以拟合的目标函数为模型, 绘制等高图可知, 固定 C, 绘制 A 和 B 两因素的交互图, 随着 A 和 B 质量比的增加, 响应值均为一曲面, 均呈现先升后降的趋势, 初黏力在 A 为 3.0, B 为 2.0 时存在极大值。

固定 B, 绘制 A 和 C 两因素的交互图, 随着 A 的质量比和 C 用量的增加, 响应值仍为一曲面, 均呈现先升后降的趋势, A 在 3.0、C 在 0.5 时, 响应值最高。

固定 A, 绘制 B 和 C 两因素的交互图, 随着 B 的质量比和 C 用量的增加, 响应值仍为一曲面, 均呈现先升后降的趋势, B 在 2.0、C 在 0.5 时, 响应值最高。

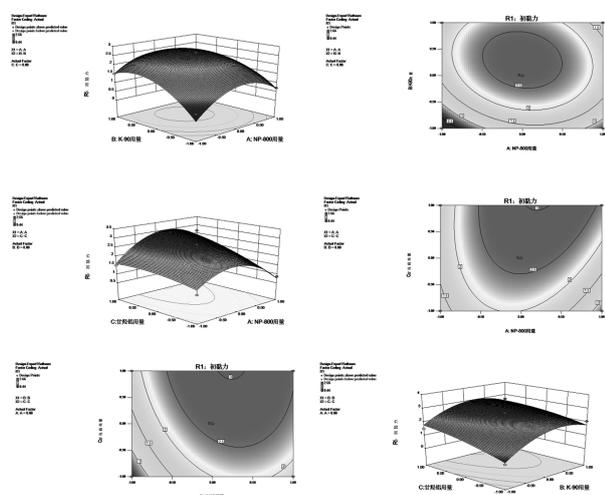


图 1 等高线和三维曲线

3.3 验证试验 由回归方程预测最佳处方为 NP-800 的用量(A)0(3.0g)、K-90 的用量(B)0(2.0g)、甘羟铝的用量(C)0(0.5g), 带入回归方程得到初黏力为 2.66。

根据预测处方, 制备 3 批次凝胶膏基质, 分别测定初黏力, 结果均为 2.66g(12# 钢球), 与预测值吻合良好, 效应面预测准确。

3.4 处方载药量的考察 凝胶膏剂基质的载药量亦影响制剂的性能, 若载药量过小, 因单位面积含药量小而需要较大的给药面积, 造成基质的浪费。本研究在优选出的基质基础上, 对马钱子凝胶膏剂的最大载药量进行了考察, 结果见表 5。结果表明, 优选出的基质中加入 5g 浸膏所制备出的马钱子凝胶膏剂均一、细腻, 气泡较少, 皮肤追随性优。

表 5 不同载药量对凝胶膏剂性能的影响

载药量(g/100g)	性状	涂展性	皮肤追随性	初黏力
0.5	膏体色泽均一	易于搅拌涂布	优	12# 钢球
1.0	膏体色泽深均一	易于搅拌涂布	良	10# 钢球
2.0	膏体色泽深均一	易于搅拌涂布略困难	良	8# 钢球

#### 4 讨论

凝胶膏剂于病变局部用药具有不经胃肠吸收和肝脏首过代谢、副作用少的优点, 与口服药物相

比, 具有生物利用度高、血药浓度恒定、药效持久的特点。凝胶膏剂由于使用方便、用量准确、粘贴性能好, 无橡胶膏剂和膏药等的皮肤过敏反应, 以及有很好的保湿性, 易使皮肤角质层软化, 从而利于药物的吸收。同时, 凝胶膏剂的生产过程中, 不会像橡胶膏剂需要使用大量的有机溶媒而更利于环境保护和劳动保护, 因此该制剂在日本及西方等国家很受欢迎<sup>[9]</sup>。

马钱子凝胶膏剂基质处方是采用金属离子与聚合物形成交联的原理。处方中聚丙烯酸钠(NP 系列) 线型分子间可以通过某些金属离子形成网状交联结构, 以改善凝胶膏体性能; 多用甘羟铝提供铝离子, 铝离子与 NP 分子间在相当短的时间内形成离子键桥, 使基质趋向固化; 交联剂铝离子用量过多, 交联反应速度快, 基质交联密度高, 基质的内聚强度大, 但黏性差; 交联剂用量不足时, 基质交联不完全, 密度低, 膏体内聚强度低, 黏性大, 但也易脱胶。在不同的 pH 条件下, EDTA 与铝离子螯合的稳定性不同, 而这种螯合反应又是可逆的, 所以随着溶液 pH 的变化, 铝离子又可以释放出来, 与 NP 分子络合。聚乙烯吡咯烷酮为凝胶膏剂的增黏剂, 初黏力与其用量在一定范围内成正比。

本实验采用 Box-Behnken 设计-效应面优化法, 考察了凝胶膏剂基质中对初黏力影响较大的辅料 NP-800、聚乙烯吡咯烷酮、甘羟铝的用量, 优选出基质处方和最大载药量。后期将对透皮促进剂进行筛选并对马钱子凝胶膏的质控指标进行研究, 以期为马钱子凝胶膏开发成骨癌痛临床用药奠定基础。

#### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2015: 51.
- [2] 李永吉, 张欣媛, 管庆霞, 等. 浅议马钱子研究进展[J]. 中医药学报, 2011, 39(4): 104.
- [3] 朱婵, 伍冠一. 常用单味镇痛中药研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2014(23): 19.
- [4] 杜冠峰, 何宇愿, 谌江城, 等. 中药镇痛活性成分经皮给药研究进展[J]. 安徽医药, 2015(1): 1.
- [5] 傅静娟, 刘志辉, 罗会盛, 等. 凝胶膏剂的研究进展[J]. 中国民族民间医药杂志, 2011, 20(13): 12.

第一作者: 朱静娟(1980—), 女, 硕士, 中药学专业。

通讯作者: 张丽, 博士, 教授。zhangliguanxiong@163.com

收稿日期: 2016-12-07

编辑: 吴 宁