

## Box-Behnken 设计-响应面法优化木鳖子霜炮制工艺

宋 燕<sup>1</sup>, 冉 珊<sup>1</sup>, 孙方方<sup>1</sup>, 洪 燕<sup>2</sup>, 韩燕全<sup>2\*</sup>

1. 安徽中医药大学, 安徽 合肥 230038

2. 安徽中医药大学第一附属医院 国家中医药管理局中药制剂三级实验室, 安徽 合肥 230031

**摘要:**目的 采用 Box-Behnken 设计-响应面法(BBD-RSM)优选木鳖子霜的最佳炮制工艺。方法 以丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸含量及脂肪油含量的指标归一值(OD)为综合评价指标,采用 3 因素 3 水平的 BBD-RSM 设计试验,考察烘制时间、烘制温度、压制时间对木鳖子霜炮制工艺的影响。结果 优化得最佳工艺条件:烘制时间 1.68 h、烘制温度 80 ℃、压制时间 30 min, OD 值为 0.777。考虑实际情况,对烘制时间进行微调得出木鳖子最佳炮制工艺,即烘制时间为 1.7 h、烘制温度为 80 ℃、压制时间为 30 min。并通过所得条件平行制备 3 批样品,计算得 OD 值分别为 0.779、0.783、0.766,其 RSD 为 1.15%。结论 采用 BBD-RSM 优选的炮制工艺稳定,模型预测效果良好,建立了木鳖子霜炮制新工艺。关键词:木鳖子霜;炮制工艺;Box-Behnken 设计-响应面法;HPLC;丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯;β-谷甾醇;齐墩果酸;脂肪油

中图分类号:R283.1

文献标志码:A

文章编号:0253-2670(2019)02-0382-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.016

## Optimization of processing technology of *Momordicae Semen* cream by Box-Behnken design-response surface methodology

SONG Yan<sup>1</sup>, RAN Shan<sup>1</sup>, SUN Fang-fang<sup>1</sup>, HONG Yan<sup>2</sup>, HAN Yan-quan<sup>2</sup>

1. Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China

2. Grade 3 Laboratory of TCM Preparation, State Administration of Anhui University of Chinese Medicine, The First Affiliated Hospital, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China

**Abstract: Objective** To optimize the optimum processing technology of *Momordicae Semen* cream using Box-Behnken design-response surface method (BBD-RSM). **Methods** The overall desirability (OD) of indexes of the content of 3-O-β-D-glucuronic acid methyl ester, β-sitosterol, and oleanolic acid and the content of fatty oil in gypsogenin was comprehensively evaluated, and BBD-RSM with three factors and three levels was used to study the effect of baking temperature and time, and pressing time on the processing technology of *Momordicae Semen* cream. **Results** According to the experiment, the optimum processing conditions were optimized: the baking time 1.68 h, the baking temperature 80 ℃, the pressing time 30 min, and the OD value was 0.777. Considering the actual situation, the optimum processing technology of *Momordicae Semen* was obtained by fine-tuning the baking time (A). That was, the baking time was 1.7 h, the baking temperature was 80 ℃, and the pressing time was 30 min. Also, the calculated OD values were 0.779, 0.783, 0.766, and its RSD was 1.15% through the obtained conditions in parallel with three batches of samples. **Conclusion** The processing technology optimized by Box-Behnken design-response surface method has the advantages of stable, good model prediction effect and a new processing technology for *Momordicae Semen* cream production.

**Key words:** *Momordicae Semen* cream; processing technology; Box-Behnken design-response surface methodology; HPLC; 3-O-β-D-glucuronic acid methyl ester; β-sitosterol; oleanolic acid; fatty oil

木鳖子 *Momordicae Semen* 为葫芦科植物木鳖子 *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. 的干燥成熟种子。本品性凉,味苦、微甘;有毒;归肝、脾、胃经;具有散结消肿、攻毒疗疮的功效,主要

收稿日期:2018-06-01

基金项目:安徽中医药大学校级探索科研项目(2016ts041);2015年中医药部门公共卫生专项资金“中药炮制技术传承基地建设”项目

作者简介:宋 燕(1993—),女,在读研究生,研究方向为中药炮制与质量分析。Tel: 18726625261 E-mail: 1535745881@qq.com

\*通信作者 韩燕全(1978—),男,副主任中药师,博士,研究方向为中药炮制与质量分析。Tel: 13155194913 E-mail: hyquan2003@163.com

用于治疗痈肿毒、乳痈、瘰癧、痔漏、干癣等病症<sup>[1]</sup>。现代药理研究表明,木鳖子具有抗炎、降压、抗肿瘤等药理作用<sup>[2-6]</sup>。《中国药典》2015 年版记载,木鳖子有小毒,需炮制成霜以达到用药安全的目的。目前,木鳖子霜大多采用经验炮制,缺乏明确的炮制工艺的参数,质量难以控制,进而临床用药疗效及安全性无法得到保障。

响应面分析法(response surface methodology, RSM)作为一种有效的实验设计方法,可进行多因素多水平实验研究,并可研究因素间的交互作用,根据综合指标得到最优化的工艺结果<sup>[7-9]</sup>。RSM 由于试验次数少,试验精度高,比正交设计试验法更简化,比均匀设计更全面,且得到的关系式可以确定在实验范围内的任何实验点的预测值,因而显示出突出的优势<sup>[10-11]</sup>。因此,本实验采用 Box-Behnken 设计-响应面法(BBD-RSM),通过建立回归模型及绘制响应面图<sup>[12-13]</sup>来优化木鳖子霜的最佳炮制工艺。旨在为木鳖子霜炮制工艺、质量标准的制订和临床合理用药提供参考和依据。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters Acquity UPLC H-Class 超高效液相色谱系统,配有四元超高压溶剂系统、自动进样恒温样本管理器、柱温箱、PDA 检测器和 Empower 2 色谱工作站,美国 Waters 公司;KQ-300DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;DK-S24 电热恒温水浴锅,上海三发科学仪器有限公司;DFY-500(摇摆式)多功能高速中药粉碎机,温州顶历医疗器械有限公司;ME55 型十万分之一分析天平,梅特勒-托利多上海有限公司;LH-P058 数显笔式酸度计,杭州陆恒生物科技有限公司。

### 1.2 材料

对照品丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯(批号 DST171120-078,质量分数≥98%)、β-谷甾醇(批号 DST160926-04,质量分数≥99%)、齐墩果酸(批号 R0160076,质量分数 99%)均购于成都德思特生物技术有限公司;木鳖子药材,批号 1702010701,产于安徽,购于亳州市中药饮片厂,经安徽中医药大学第一附属医院国家中医药管理局中药制剂三级实验室李立华主任中药师鉴定为葫芦科植物木鳖 *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. 的干燥成熟种子;色谱纯乙腈,美国 Sigma 公司;甲醇、磷酸等试剂均为分析纯,购自国药集

团试剂公司;屈臣氏蒸馏水;安捷伦公司生产的规格为 0.22 μm 微孔滤膜。

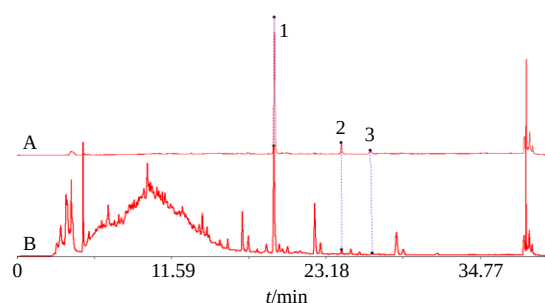
## 2 方法与结果

### 2.1 木鳖子霜的制备

取一定量木鳖子,去壳取仁,放置于真空干燥箱内,于一定温度下加热一定时间(按照实验设定温度和时间烘制),用粉碎机粉碎过 40 目筛后,取出用吸油纸包裹放置于压油机内,压制去油,换纸重复操作至吸油纸上基本无油迹,即可。

### 2.2 3 种皂苷成分含量测定

**2.2.1 色谱条件** Agilent TC-C<sub>18</sub>(2)(250 mm×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为乙腈-0.1%磷酸水溶液,梯度洗脱程序为 0~3 min, 10%~20%乙腈;3~10 min, 20%~50%乙腈;10~20 min, 50%~100%乙腈;20~34 min, 100%乙腈;34~36 min, 100%~10%乙腈;36~40 min, 10%乙腈;柱温 30 ℃;体积流量 0.8 mL/min;检测波长 203 nm;进样量为 5 μL。色谱图见图 1。



1-丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯 2-β-谷甾醇 3-齐墩果酸  
1-3-O-β-D-glucuronic acid methyl ester 2-β-sitosterol 3-oleanolic acid

图 1 混合对照品 (A) 与木鳖子霜 (B) HPLC 图谱  
Fig. 1 HPLC profile of mixed reference (A) and *Momordicae Semen* cream (B)

**2.2.2 对照品溶液的制备** 精密称取丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸对照品适量,分别置于棕色容量瓶中,用甲醇定容至刻度制成母液。再用移液管分别从丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸母液中精密吸取 2.5、0.5、0.1 mL 对照品溶液共同置于 5 mL 棕色量瓶中,用甲醇定容至刻度,摇匀,制成的混合对照品溶液中含有丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯 310.5 μg/mL, β-谷甾醇 34.5 μg/mL, 齐墩果酸 13.2 μg/mL。

**2.2.3 供试品溶液的制备** 按照“2.1”项下方法制备木鳖子霜,精密称取木鳖子霜约 0.75 g,置于索

氏提取器中。于提取瓶中加入 60% 甲醇 100 mL, 回流提取 4 h 后于水浴锅中 90 °C 蒸干。将所得残渣移至 10 mL 具塞试管中, 另加 10 mL 水和 0.6 mL 硫酸, 振荡, 混匀, 塞紧。将试管置于沸水浴中加热 2 h, 取出, 冷却, 并滤过得残渣加色谱甲醇 9 mL 于 10 mL 量瓶中, 另加 1~2 滴硫酸, 并使用 LH-P058 数显笔式酸度计测 pH 值至 2.0, 摇匀, 定容。最后将样品溶液于 50 °C 水浴中加热 4 h, 取出放冷, 加甲醇补至刻度, 备用。进样前取少量样品溶液, 离心, 滤过, 取续滤液, 即可。

**2.2.4 线性关系考察** 按“2.2.1”项下色谱条件, 分别取丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸混合对照品溶液 2、4、6、8、10 μL, 注入超高效液相色谱仪。记录其色谱峰, 色谱峰面积设为纵坐标 (Y), 进样量设为横坐标 (X), 进行线性拟合, 得出丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯回归方程  $Y=201\ 649.25 X-4\ 227.7$ ,  $r=0.999\ 96$ , 线性范围为 0.621~3.105 μg; β-谷甾醇回归方程  $Y=14\ 629.45 X-658.9$ ,  $r=0.999\ 97$ , 线性范围为 69.2~346.0 ng; 齐墩果酸回归方程  $Y=8\ 324.05 X+2\ 788.7$ ,  $r=0.999\ 98$ , 线性范围为 26.4~132.0 ng, 所得方程均满足  $P<0.000\ 1$ , 说明拟合方程均显示极其显著的线性关系。

**2.2.5 精密度考察** 精密吸取 5 号供试品溶液 5 μL, 在“2.2.1”项色谱条件下重复进样 6 次, 记录丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸峰面积积分值, 计算其 RSD 值分别为 1.11%、0.58%、1.13%, 结果表明仪器精密度表现良好。

**2.2.6 稳定性考察** 精密吸取 5 号供试品溶液 5 μL, 在“2.2.1”项色谱条件下重复进样 6 次, 时间间隔为 0、4、8、12、16、24 h。记录丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸峰面积积分值, 计算其 RSD 值分别为 2.00%、2.18%、1.91%, 结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.2.7 重复性考察** 制备 6 份 5 号供试品溶液, 分别精密吸取供试品溶液 5 μL, 在“2.2.1”项色谱条件下进样, 记录丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸峰面积积分值, 计算其 RSD 值分别为 0.17%、0.69%、0.64%, 表明该方法重复性表现良好。

**2.2.8 加样回收率试验** 精密称取 6 份 0.75 g 左右的 5 号样品粉末, 适量对照品溶液, 按照“2.2.3”

项下方法制备供试品溶液。精密吸取供试品 5 μL, 在“2.2.1”项色谱条件下进样, 记录丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸峰面积积分值, 计算其平均回收率, 结果分别为 100.19%、102.89%、103.03%, RSD 分别为 1.16%、1.33%、1.32%。

## 2.3 脂肪油的提取和含量测定

精密称取木鳖子霜粉末 1.0 g, 置于索氏提取器中, 另于提取瓶内加入 90 mL 石油醚 (沸程 60~90 °C), 连接提取器及冷凝管, 接上水流, 在 85 °C 水浴中进行回流提取 6 h。收集提取液倒入已恒定质量的蒸发皿 (前后质量差小于 0.2 mg) 中, 放于水浴锅上 80 °C 挥干溶剂, 再置于电热恒温烘箱内于 80 °C 烘制干燥 0.5 h, 取出冷却 0.5 h, 即可。参照文献方法计算木鳖子霜的脂肪油含量<sup>[14]</sup>。

## 2.4 BBD-RSM 优选炮制工艺

**2.4.1 试验设计与结果** 基于“2.1”项木鳖子霜的制备流程, 选取了烘制时间 (A)、烘制温度 (B) 及压制时间 (C) 3 个主要考察因素, 丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯 ( $Y_1$ )、β-谷甾醇 ( $Y_2$ )、齐墩果酸 ( $Y_3$ ) 含量及脂肪油含量 ( $Y_4$ ) 的指标总评分 (OD) 为响应指标, 采用 Design-Expert 8.0.5b 软件的 BBD-RSM 试验设计的 3 因素 3 水平设计方案。优化实验以所选 3 因素为自变量, 以总评分 OD 值为因变量, 建立多元线性回归方程, 并根据拟合模型得出响应面图<sup>[15-17]</sup>, 进而优化出最优炮制方案, 试验设计方案与结果见表 1。

总评分 OD 值计算步骤: ①采用 Hassan 法对丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯、β-谷甾醇、齐墩果酸及脂肪油含量指标进行归一化处理, 其中丝石竹皂苷元 3-O-β-D-葡萄糖醛酸甲酯 ( $d_1$ )、β-谷甾醇 ( $d_2$ )、齐墩果酸 ( $d_3$ ) 指标值越大越好 [ $d=(M_i-M_{\min})/(M_{\max}-M_{\min})$ ]; 脂肪油含量 ( $d_4$ ) 指标值越小越好 [ $d=(M_{\max}-M_i)/(M_{\max}-M_{\min})$ ]。式中  $M_i$  为指标测量值,  $M_{\max}$  和  $M_{\min}$  指每一指标在所有试验中所测得的最大值和最小值。②将处理所得各指标进行“归一化”, 得总评分 OD 值, 即  $OD=(d_1 \times d_2 \times d_3 \times d_4)^{1/4}$ 。

**2.4.2 模型拟合与方差分析** 将表 1 所得数据导入 Design-Expert 8.0.5b 软件, 进行多元二项式拟合, 模型拟合及方差分析结果如下:  $OD=0.49-0.094 A-0.10 B+0.26 C-0.068 AB+0.084 AC-0.091 BC-0.082 A^2-0.095 B^2-0.081 C^2$ 。

表 1 BBD 试验设计及结果  
Table 1 Design and results of BBD test

| 试验号 | A/h      | B/℃     | C/min   | Y <sub>1</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> ) | Y <sub>2</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> ) | Y <sub>3</sub> /(mg·g <sup>-1</sup> ) | Y <sub>4</sub> % | OD    |
|-----|----------|---------|---------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------|-------|
| 1   | 1.0 (-1) | 80 (-1) | 20 (0)  | 6.666                                 | 0.293                                 | 0.164                                 | 29.78            | 0.497 |
| 2   | 1.0 (-1) | 90 (0)  | 10 (-1) | 6.038                                 | 0.347                                 | 0.122                                 | 32.15            | 0.266 |
| 3   | 1.5 (0)  | 90 (0)  | 20 (0)  | 6.851                                 | 0.402                                 | 0.160                                 | 27.94            | 0.603 |
| 4   | 1.5 (0)  | 80 (-1) | 10 (-1) | 6.542                                 | 0.407                                 | 0.169                                 | 35.86            | 0.000 |
| 5   | 1.5 (0)  | 80 (-1) | 30 (1)  | 7.005                                 | 0.278                                 | 0.253                                 | 21.13            | 0.817 |
| 6   | 1.5 (0)  | 90 (0)  | 20 (0)  | 6.783                                 | 0.387                                 | 0.157                                 | 27.34            | 0.579 |
| 7   | 1.5 (0)  | 90 (0)  | 20 (0)  | 6.828                                 | 0.252                                 | 0.146                                 | 28.13            | 0.453 |
| 8   | 2.0 (1)  | 90 (0)  | 30 (1)  | 6.695                                 | 0.205                                 | 0.173                                 | 19.05            | 0.564 |
| 9   | 1.0 (-1) | 90 (0)  | 30 (1)  | 6.379                                 | 0.189                                 | 0.163                                 | 18.21            | 0.493 |
| 10  | 2.0 (1)  | 100 (1) | 20 (0)  | 6.020                                 | 0.117                                 | 0.122                                 | 26.32            | 0.000 |
| 11  | 1.5 (0)  | 90 (0)  | 20 (0)  | 6.732                                 | 0.207                                 | 0.145                                 | 26.34            | 0.423 |
| 12  | 1.5 (0)  | 100 (1) | 10 (-1) | 4.978                                 | 0.262                                 | 0.130                                 | 30.67            | 0.000 |
| 13  | 2.0 (1)  | 80 (-1) | 20 (0)  | 7.066                                 | 0.147                                 | 0.163                                 | 27.97            | 0.356 |
| 14  | 1.0 (-1) | 100 (1) | 20 (0)  | 6.537                                 | 0.223                                 | 0.147                                 | 28.19            | 0.413 |
| 15  | 2.0 (1)  | 90 (0)  | 10 (-1) | 6.155                                 | 0.313                                 | 0.113                                 | 29.13            | 0.000 |
| 16  | 1.5 (0)  | 100 (1) | 30 (1)  | 6.077                                 | 0.193                                 | 0.156                                 | 18.01            | 0.453 |
| 17  | 1.5 (0)  | 90 (0)  | 20 (0)  | 6.698                                 | 0.197                                 | 0.152                                 | 27.84            | 0.409 |

表 2 结果显示,模型的  $P=0.004\ 9<0.01$ ,说明所采用的回归模型具有极显著意义,失拟项的  $P=0.280\ 8>0.05$ ,表明失拟项并不显著,故该方程拟合的模型可以用于分析木鳖子制霜炮制工艺,预测最优工艺参数。分析所得相关系数  $r^2=0.916\ 9$ ,  $R_{adj}^2=0.883\ 6$ ,说明该模型与实际情况拟合较吻合;C 项  $P=0.000\ 2<0.01$ ,说明达到极显著水平,A、B 项的  $P$  值均  $<0.05$ ,说明具有显著意义,而 AB、AC、BC、 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  项均不显著,故说明单因素对 OD 值的影响远远超过交互项,因而不再进行交互作用分析,且因素影响顺序为  $C>B>A$ 。

#### 2.4.3 响应面法优化最佳制霜工艺 根据“2.4.2”

项得到回归模型,采用 Design-Expert8.0.5b 软件绘制各因素对 OD 值的响应曲面图(图 2)。结果显示,最佳的工艺条件为  $A=1.68\ h$ 、 $B=80\ ^\circ\text{C}$ 、 $C=30\ \text{min}$ ,  $OD=0.777$ 。 $A=1.68\ h$  即  $100.8\ \text{min}$ ,考虑到实际操作,将其微调为  $1.7\ h$  即  $102\ \text{min}$ 。故最终优选工艺为烘制时间  $1.7\ h$ 、烘制温度  $80\ ^\circ\text{C}$ 、压制时间  $30\ \text{min}$ 。

**2.4.4 验证实验** 根据优选出的最佳工艺平行制备木鳖子霜 3 份,按照“2.2.3”项下方法制备样品溶液,以“2.2.1”项色谱条件进样  $5\ \mu\text{L}$ ,并根据所得样品峰面积,得出丝石竹皂苷元 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸甲酯、 $\beta$ -谷甾醇、齐墩果酸含量,另外按照“2.3”

表 2 二次多项式方程模型方差分析  
Table 2 Variance analysis of quadratic polynomial equation model

| 来源 | 平方和     | 自由度 | F 值     | P 值     | 显著性      | 来源    | 平方和     | 自由度 | F 值     | P 值     | 显著性 |
|----|---------|-----|---------|---------|----------|-------|---------|-----|---------|---------|-----|
| 模型 | 0.870 0 | 9   | 8.580 0 | 0.004 9 | $P<0.01$ | $A^2$ | 0.028 0 | 1   | 2.051 0 | 0.157 0 |     |
| A  | 0.070 0 | 1   | 6.250 0 | 0.041 0 | $P<0.05$ | $B^2$ | 0.038 0 | 1   | 3.390 0 | 0.108 1 |     |
| B  | 0.081 0 | 1   | 7.200 0 | 0.031 4 | $P<0.05$ | $C^2$ | 0.028 0 | 1   | 2.045 0 | 0.161 4 |     |
| C  | 0.530 0 | 1   | 47.310  | 0.000 2 | $P<0.01$ | 残差    | 0.079 0 | 1   |         |         |     |
| AB | 0.018 0 | 1   | 1.650 0 | 0.240 1 |          | 失拟项   | 0.046 0 | 3   | 1.840 0 | 0.280 8 |     |
| AC | 0.028 0 | 1   | 2.530 0 | 0.155 7 |          | 绝对误差  | 0.033 0 | 4   |         |         |     |
| BC | 0.033 0 | 1   | 2.095 0 | 0.129 5 |          | 总和    | 0.950 0 | 16  |         |         |     |

项下提取脂肪油, 计算其含量, 最终计算其 OD 值, 实验所得结果显示该模型具备较高的准确性和精密

性, 所优选的工艺稳定可行, 其验证结果见表 3, 其中偏差值=OD-预测值。

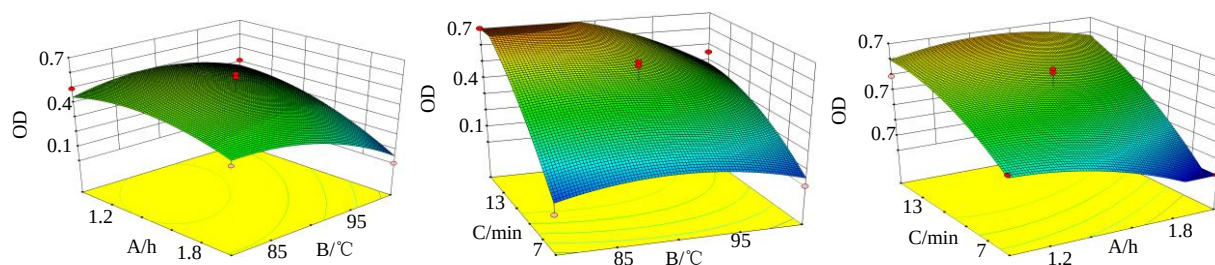


图 2 A、B、C 对 OD 值的响应面 3D 图

Fig. 2 3D response surface of A, B, and C to OD value

表 3 工艺验证实验结果

Table 3 Results of process verification

| 试验号 | $Y_1/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | $Y_2/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | $Y_3/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | $Y_4/\%$ | OD    | 预测值   | 偏差/%   | RSD/% |
|-----|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|-------|-------|--------|-------|
| 1   | 7.383                               | 0.263                               | 0.212                               | 19.657   | 0.779 | 0.777 | 0.200  | 1.150 |
| 2   | 7.404                               | 0.263                               | 0.219                               | 20.538   | 0.783 |       | 0.600  |       |
| 3   | 7.352                               | 0.269                               | 0.211                               | 21.113   | 0.766 |       | -1.100 |       |

### 3 讨论

本实验采用 BBD-RSM 优化木鳖子霜炮制工艺。传统炮制工艺优选大多采用线性数学模型设计的正交试验, 其优点是可以选出多水平、多因素的最佳条件, 但只能分析离散型数据, 且精确度不高, 预测性较差。而响应面法是一种用非线性模型设计的实验方法, 建立了明确的多项式函数来表达因素与响应值之间的联系, 可以精确预测最佳工艺条件; 本实验采用此法建立质控指标与关键工艺参数的数学模型, 并运用该模型对最佳工艺结果进行预测, 结果显示预测值与实际值的偏差在 2% 以内, 表明其相关性良好, 说明对木鳖子霜的炮制工艺进行响应面法优化合理可行。

本实验采用 HPLC 法测定木鳖子霜中丝石竹皂苷元 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸甲酯、 $\beta$ -谷甾醇、齐墩果酸含量, 且木鳖子样品中丝石竹皂苷元 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸甲酯含量均大于 0.4%, 符合《中国药典》2015 年版不低于 0.4% 的规定。其木鳖子霜按《中国药典》2015 年版记载制备供试品溶液, 其指标成分丝石竹皂苷元 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸甲酯色谱峰较小, 经实验验证原因是丝石竹皂苷元 3-O- $\beta$ -D-葡萄糖醛酸甲酯为木鳖子皂苷降解后的次级苷, 需水解处理。

通过考察不同色谱柱: Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.6  $\mu\text{m}$ )、Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH

C<sub>18</sub> (100 mm×2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ) 及 Agilent TC-C<sub>18</sub> (2) (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )。结果显示, 采用 Agilent TC-C<sub>18</sub> (2) (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ) 色谱柱, 得到的色谱峰分离的较好。本实验还对不同流动相系统、体积流量、柱温及检测波长均进行了考察, 结果表明本实验所采用的检测仪器及方法对木鳖子霜适用性良好。本实验旨在优选木鳖子霜的最佳炮制工艺, 相较于传统炮制工艺, 明显降低了其制作周期, 且具有可控性, 为其质量标准提供了参考依据, 同时为后期实验奠定基础。

### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 耿艺曼, 赵连梅, 朱秀丽, 等. 木鳖子对羟基桂皮醛对黑素瘤 B16 细胞分化的影响及其机制 [J]. 中草药, 2013, 44(14): 1951-1956.
- [3] Jung K, Lee D, Yu J S, et al. Protective effect and mechanism of action of saponins isolated from the seeds of gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) against cisplatin-induced damage in LLC-PK1 kidney cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(5): 1466-1470.
- [4] 赵连梅, 耿艺曼, 孙士萍, 等. 木鳖子单体化合物对羟基桂皮醛诱导小鼠黑素瘤 B16 细胞的分化及其机制 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21(3): 282-287.
- [5] 郑 蕾, 何 昊, 方 怡, 等. 木鳖子抗肿瘤有效作用部位筛选及作用机制探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志,

- 2017, 23(9): 152-157.
- [6] 于向艳, 崔雯萱, 孙士萍, 等. 木鳖子对羟基桂皮醛对小鼠黑素移植瘤生长的抑制作用及机制研究 [J]. 中草药, 2016, 47(10): 1740-1745.
- [7] Beringhs A O, Dalmina M, Creczynski-Pasa T B, *et al.* Response surface methodology IV-optimal design applied to the performance improvement of an RP-HPLC-UV method for the quantification of phenolic acids in *Cecropia glaziovii* products [J]. *Revista Brasileira Farmacognosia*, 2015, 25(5): 513-521.
- [8] Körbahti B K, Demirbüken P. Electrochemical oxidation of resorcinol in aqueous medium using boron-doped diamond anode: Reaction kinetics and process optimization with response surface methodology [J]. *Front Chem*, 2017, 5: 75.
- [9] 李存玉, 马 赟, 龚柔佳, 等. 响应面分析法耦合调节 Donnan 效应优化苦参提取液的纳滤浓缩工艺 [J]. 中草药, 2016, 47(19): 3395-3400.
- [10] 余小翠, 刘高峰. 响应面分析法在中药提取和制备工艺中的应用 [J]. 中药材, 2010, 33(10): 1651-1655.
- [11] 樊根遥, 孙收杰. 响应面法在优化中药提取工艺中的应用 [J]. 应用科技, 2015(6): 139.
- [12] 陈 洁, 戴衍朋, 孙立立, 等. Box-Behnken 设计-效应面法优选甘草切制工艺 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1579-1583.
- [13] 李 化, 柯华香, 李发洁, 等. Box-Behnken 响应面法优选五味子多糖双水相提取工艺 [J]. 中药材, 2016, 39(3): 593-597.
- [14] 张 丹, 蒋海强, 张久严. 木鳖子中脂肪油的提取及 GC-MS 联用分析 [J]. 中成药, 2010, 32(2): 314-315.
- [15] 王 晖, 陈 丽, 陈 垦, 等. 多指标综合评价方法及权重系数的选择 [J]. 广东药学院学报, 2007, 23(5): 583-589.
- [16] 刘飞燕, 张建方. 多指标回归综合评分 [J]. 数理统计与管理, 2014, 33(3): 408-415.
- [17] 王协和, 夏林丽, 呼 梅, 等. Box-Behnken 响应曲面结合多指标综合评分法优选通脉复方提取工艺 [J]. 中国医院药学杂志, 2017, 37(8): 712-716.