

Box-Behnken Design 响应面法结合遗传算法和直接搜索算法优化丹栀逍遥散的提取工艺^Δ

苏本正*, 江波, 崔宁, 于宗渊[#](山东省中医药研究院, 济南 250014)

中图分类号 R283.6;R284.1;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)24-3364-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.24.12

摘要 目的:优化丹栀逍遥散的提取工艺。方法:采用加热回流提取法提取丹栀逍遥散组方药材样品粉末,以乙醇体积分数、提取时间和液料比(V/m)为考察因素,以栀子苷、芍药苷和丹皮酚3个指标成分的综合评分为评价指标,先采用Box-Behnken Design (BBD)响应面法进行试验设计,建立数学模型并获得目标函数后,结合遗传算法和直接搜索算法求解各因素的最优取值。结果:丹栀逍遥散中3个指标成分的最优提取工艺条件为60.8%乙醇提取3.1 h,液料比为15.72:1(mL/g)。采用BBD响应面法或结合遗传算法和直接搜索算法所得的综合评分比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:经优化的工艺可用于丹栀逍遥散中3个指标成分的提取。BBD响应面法结合遗传算法和直接搜索算法在优化中药提取工艺方面具有一定优越性。

关键词 丹栀逍遥散;Box-Behnken Design;响应面法;遗传算法;直接搜索算法;提取工艺

Optimization of Extraction Technology of Danzhi Xiaoyao Powder by Box-Behnken Design Response Surface Methodology Combined with Genetic Algorithm and Direct Search Methods

SU Benzhen, JIANG Bo, CUI Ning, YU Zongyuan (Shandong Research Academy of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the extraction technology of Danzhi xiaoyao powder. METHODS: The medicinal powder in the formula of Danzhi xiaoyao powder was extracted by using the heating reflux method. Box-Behnken Design (BBD) response surface methodology (RSM) was adopted for trial design with ethanol volume fraction, extraction time and ratio of water to material (V/m) as factors by using comprehensive scores of geniposide, paeoniflorin and paeonol as evaluation indexes. After mathematical model and objective function were obtained, genetic algorithm and direct search method were used to obtain the optimum ranges and value of extraction process parameters. RESULTS: The optimal extraction technology of three indexes in Danzhi xiaoyao powder included 60.8% ethanol, extraction time of 3.1 h, water-material ratio of 15.72:1 (mL/g). There was no statistical significance in the difference of comprehensive scores by BBD RSM alone or combined with genetic algorithm and direct search method ($P>0.05$). CONCLUSIONS: The technology can be used for the extraction of index from Danzhi xiaoyao powder. BBD-RSM combined with genetic algorithm and direct search method has certain superiority in optimizing the extraction process of TCM.

KEYWORDS Danzhi xiaoyao powder; Box-Behnken Design; Response surface methodology; Genetic algorithm; Direct search method; Extraction technology

逍遥散出自《太平惠民和剂局方》,由白芍、当归、茯苓、白术、柴胡、薄荷、炙甘草等多味药材组合而成。明代薛己在此基础上加入牡丹皮和栀子,制成加味逍遥散,又名丹栀逍遥散,具有养血健脾、疏肝清热之功效,是调和肝脾的代表方剂^[1]。

有研究表明,白芍中的芍药苷对模型大鼠脑缺血后的血脑屏障具有保护作用^[2],对肿瘤细胞的生长有一定

抑制作用^[3],对肝脏具有保护作用^[4];牡丹皮中的丹皮酚具有抗肿瘤^[5]、抗神经系统氧化应激损伤^[6]、抗动脉粥样硬化^[7]和改善血液循环^[8]等作用;栀子中的栀子苷具有保肝利胆^[9]、改善脑缺血^[10]、调节血糖^[11]和镇痛抗炎^[12]等作用。由此可见,栀子苷、芍药苷和丹皮酚这3个成分与丹栀逍遥散养血健脾、疏肝清热的功效相呼应,均为该方重要的活性成分。此外有研究表明,该方中栀子苷、芍

[16] 王海蓉,李小彬,杨楸楠,等. UPLC-MS/MS研究披针灰

^Δ 基金项目:山东省重点研发计划项目(No.2017GSF19117);山东省中医药科技发展计划项目(No.2013-111)

* 副研究员。研究方向:中药分析与质量控制。E-mail: subenzheng@163.com

[#] 通信作者:研究员,博士。研究方向:中药化学。电话:0531-82949805。E-mail: yuzys@sohu.com

叶素B在不同种属肝微粒体中的代谢稳定性及代谢酶表型[J]. 中国中药杂志,2016,41(1):124-128.

[17] 蹇阳,陈琳,原梅,等. 欧前胡素肝微粒体代谢动力学和细胞色素P₄₅₀代谢表型分析[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2016,30(8):848-854.

(收稿日期:2018-03-21 修回日期:2018-09-01)

(编辑:张元媛)

药苷和丹皮酚含量均较高^[13]。因此,本试验选择栀子苷、芍药苷和丹皮酚为指标成分。

响应面法可通过建立连续变量曲面模型,对影响生物过程的因子及其交互作用进行评价,最终确定各因素的最优水平取值^[14]。近年来,响应面法逐渐被用于中药提取条件的优化中。美国MathWorks公司发布的MATLAB遗传算法与直接搜索工具箱(GADS)是一系列函数的集合,可让用户在响应面法结果的基础上同时使用遗传算法^[15-16]和直接搜索算法^[17]来求解各种优化问题。

本试验以乙醇体积分数、提取时间和液料比为考察因素,以丹栀逍遥散中栀子苷、芍药苷和丹皮酚3个指标成分的综合评分为评价指标,先采用Box-Behnken Design(BBD)响应面法进行试验设计,建立数学模型并获得目标函数后,再结合遗传算法和直接搜索算法求解各因素的最优范围与最优取值,为该方的提取工艺优化提供参考。

1 材料

1.1 仪器

2695型高效液相色谱仪,包括2996二极管阵列检测器、Empower色谱工作站等(美国Waters公司);TDL40B型低速离心机(上海安亭科学仪器厂);BP211D型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];FW-80型高速万能粉碎机(北京市永光明医疗仪器有限公司);KDM型控温电热套(山东鄞城华鲁电热仪器有限公司);SHB-III型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司)。

1.2 试剂

栀子苷对照品(批号:110749-201410,纯度:≥100%)、芍药苷对照品(批号:110736-201438,纯度:≥96.4%)、丹皮酚对照品(批号:110708-201407,纯度:≥99.9%)均购自中国食品药品检定研究院;甲醇、乙腈均为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为一级纯化水。

1.3 药材

柴胡(批号:161201)、当归(批号:160501)、白芍(批号:160601)、白术(批号:160401)、茯苓(批号:161001)、炙甘草(批号:160601)、牡丹皮(批号:160801)、栀子(批号:160701)和薄荷(批号:160901)药材均购自山东百味堂中药饮片有限公司,经山东省中医药研究院林慧彬研究员鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 栀子苷、芍药苷、丹皮酚的含量测定

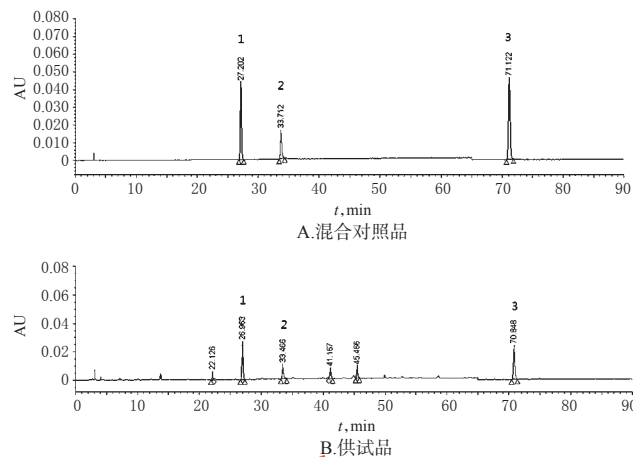
2.1.1 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱:Phenomenex Luna-C₁₈(250 mm×4.60 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(洗脱程序见表1);流速:1.0 mL/min;检测波长:240 nm(0~30 min)、232 nm(30~65 min)、274 nm(65~90 min);柱温:30 ℃;进样量:5 μL。在该色谱条件下,理论板数以栀子苷、芍药苷、丹皮酚峰计均大于3 000,分离良好,分离度均大于

1.5。色谱见图1。

表1 梯度洗脱程序

Tab 1 Gradient elution procedure

时间,min	A,%	B,%
0	5.0	95.0
30	15.0	85.0
65	30.0	70.0
90	60.0	40.0



注:1.栀子苷;2.芍药苷;3.丹皮酚

Note: 1. geniposide; 2. paeoniflorin; 3. paeonol

图1 高效液相色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms

2.1.2 混合对照品溶液的制备 精密称取指标成分对照品各适量,加甲醇制成栀子苷、芍药苷和丹皮酚质量浓度分别为74.9、56.2、33.4 μg/mL的混合对照品溶液。

2.1.3 供试品溶液的制备 分别精密称取柴胡0.5 g、当归0.5 g、白芍0.5 g、白术0.5 g、茯苓0.5 g、炙甘草0.4 g、牡丹皮0.75 g、栀子0.75 g和薄荷0.1 g(均粉碎,过4号筛)组成复方,加入一定量提取溶剂后,称定质量,加热回流提取;提取液滤过后放冷,用提取溶剂补足减失的质量,3 000 r/min离心15 min;取上清液1 mL,用提取溶剂定容至10 mL,滤过,取续滤液,即得。

2.1.4 线性关系考察 分别精密量取“2.1.2”项下混合对照品溶液0、1、2、4、6、8、10、20 μL,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以各指标成分进样量(x, μg)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标进行线性回归,得栀子苷、芍药苷、丹皮酚的回归方程分别为 $y=1\ 483\ 728x-12\ 051$ ($r=0.999\ 5$)、 $y=927\ 308x-20\ 630$ ($r=0.997\ 5$)、 $y=5\ 116\ 603x-44\ 372$ ($r=0.999\ 9$)。结果表明,栀子苷、芍药苷、丹皮酚检测进样量线性范围分别为0.074 9~1.498、0.056 2~1.124、0.033 4~0.668 μg。

2.1.5 方法学考察 分别进行精密度、稳定性、重复性试验,分别测定栀子苷、芍药苷和丹皮酚的峰面积。结果栀子苷、芍药苷和丹皮酚峰面积的RSD均小于3.0%,表明本试验仪器精密度、方法重复性均较好,供试品溶液在室温下放置24 h内基本稳定。

2.1.6 样品中各指标成分的含量测定及综合评分 取

处方配比药材样品(均粉碎,过4号筛)各适量,分别按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,平行测定3次,记录峰面积并计算样品中各指标成分的含量。以各指标成分的最高含量值为参照将数据进行归一化,再按照各指标成分的权重(本研究将栀子苷、芍药苷和丹皮酚的权重系数均设为1)计算得综合评分:综合评分(Y)=(栀子苷含量/栀子苷最高含量+芍药苷含量/芍药苷最高含量+丹皮酚含量/丹皮酚最高含量)。

2.2 单因素试验

2.2.1 乙醇体积分数对综合评分的影响 在提取时间2 h、液料比15:1(V/m, mL/g)、提取2次的条件下,分别设置乙醇体积分数为20%、40%、50%、60%、70%、80%。取处方配比药材样品(均粉碎,过4号筛)适量,分别进行加热回流提取,按“2.1.6”项下方法进行各指标成分含量测定并计算综合评分,结果见图2A。由图2A可知,综合评分随乙醇体积分数的增大而先增加后趋于平缓并略有降低,当乙醇体积分数为60%时样品综合评分最高,故最终选择60%乙醇为提取溶剂。

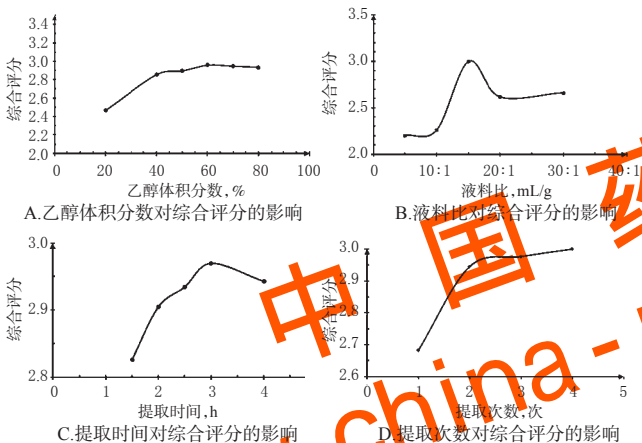


图2 单因素试验结果

Fig 2 Results of single factor experiment

2.2.2 液料比对综合评分的影响 在60%乙醇为提取溶剂、提取时间为2 h、提取2次的条件下,分别设置液料比为5:1、10:1、15:1、20:1、30:1(V/m, mL/g)。取处方配比药材样品(均粉碎,过4号筛)适量,分别进行加热回流提取,按“2.1.6”项下方法进行各指标成分含量测定并计算综合评分,结果见图2B。由图2B可知,综合评分随液料比的增大而先增加后降低最后趋于平缓,当液料比为15:1(mL/g)时综合评分最高,故最终选择15:1(mL/g)为液料比。

2.2.3 提取时间对综合评分的影响 在60%乙醇为提取溶剂、液料比为15:1(V/m, mL/g)、提取2次的条件下,分别设置提取时间为1.5、2、2.5、3、4 h。取处方配比药材样品(均粉碎,过4号筛)适量,分别进行加热回流提取,按“2.1.6”项下方法进行各指标成分含量测定并计算综合评分,结果见图2C。由图2C可知,综合评分随提取时间的延长而先增加后降低,当提取时间为3 h时综合

评分最高,故最终选择3 h为提取时间。

2.2.4 提取次数对综合评分的影响 在60%乙醇为提取溶剂、提取时间为2 h、液料比为15:1(V/m, mL/g)的条件下,分别设置提取次数为1、2、3、4次。取处方配比药材样品(均粉碎,过4号筛)适量,分别进行加热回流提取,按“2.1.6”项下方法进行各指标成分含量测定并计算综合评分,结果见图2D。由图2D可知,综合评分随提取次数的增多而先增加后趋于平缓,当提取2次时综合评分已高于2.95分,故最终选择2次为提取次数。

2.3 BBD响应面法优化提取工艺

2.3.1 试验设计与结果 在单因素试验的基础上,运用Design-Expert 8.0.5b软件,以综合评分为响应值,以乙醇体积分数(A)、提取时间(B)和液料比(C, V/m)为因素,采用BBD响应面法进行3因素3水平试验。因素与水平见表2, BBD响应面法试验设计与结果见表3。

表2 因素与水平

Tab 2 Factors and levels

水平	因素		
	A, %	B, h	C, mL/g
-1	50	2	10:1
0	60	3	15:1
1	70	4	20:1

表3 BBD响应面法试验设计与结果

Tab 3 Design and results of BBD response surface trial

试验号	因素			栀子苷评分	芍药苷评分	丹皮酚评分	综合评分
	A	B	C				
1	-1	-1	0	0.748	0.708	0.680	2.136
2	0	-1	0	0.784	0.755	0.693	2.232
3	-1	1	0	0.820	0.730	0.756	2.305
4	1	1	0	0.798	0.764	0.742	2.304
5	-1	0	-1	0.773	0.712	0.684	2.169
6	1	0	-1	0.794	0.723	0.706	2.224
7	-1	0	1	0.807	0.747	0.719	2.273
8	1	0	1	0.907	0.855	0.790	2.552
9	0	-1	-1	0.745	0.729	0.657	2.131
10	0	1	-1	0.872	0.821	0.789	2.481
11	0	-1	1	0.865	0.763	0.740	2.368
12	0	1	1	0.856	0.764	0.775	2.394
13	0	0	0	1.000	1.000	0.859	2.859
14	0	0	0	0.998	0.958	0.914	2.870
15	0	0	0	0.954	0.906	0.989	2.849
16	0	0	0	0.960	0.982	0.981	2.923
17	0	0	0	0.971	0.946	1.000	2.917

2.3.2 模型拟合和方差分析 运用Design-Expert 8.0.5b软件对试验数据进行模型拟合,拟合得到的回归模型为 $Y = -15.11647 + 0.40285A + 2.26667B + 0.28386C - 0.002425AB + 0.00112AC - 0.01620BC - 0.00339175A^2 - 0.30017B^2 - 0.009597C^2$ ($r = 0.991$)。对该模型进行方差分析,结果见表4。由表4可知,该模型的 $P < 0.0001$,说明模型具有显著性;失拟误差的 $P = 0.0657005$,说明失拟项不具有显著性,即该模型对试验数据的拟合情况较好,可较好地分析各因素对丹栀逍遥散指标成分提取的影响。方差分析结果显示,模型中A、B、C、BC、 A^2 、

B²、C²对响应值影响显著,AB、AC影响不显著。经软件分析可得最优提取工艺条件为60.88%乙醇提取3.11 h、液料比15.72:1(mL/g),在此条件下可得综合评分为2.895 24。

表4 方差分析结果

Tab 4 Analysis results of variance

误差来源	自由度	离均差平方和	均方差	F	P	显著性
模型	9	1.39	0.15	44.92	<0.000 1	<0.05
A	1	0.023	0.023	6.71	0.036 0	<0.05
B	1	0.048	0.048	13.87	0.007 4	<0.05
C	1	0.042	0.042	12.34	0.009 8	<0.05
AB	1	0.002 352	0.002 352	0.69	0.435 0	>0.05
AC	1	0.013	0.013	3.66	0.097 4	<0.05
BC	1	0.026	0.026	7.65	0.027 9	<0.05
A ²	1	0.48	0.48	141.19	<0.000 1	<0.05
B ²	1	0.38	0.38	110.59	<0.000 1	<0.05
C ²	1	0.24	0.24	70.65	<0.000 1	<0.05
残差	7	0.024	0.003 431			
失拟误差	3	0.019	0.006 453	5.54	0.065 7	>0.05
纯误差	4	0.004 655	0.001 164			
总和	16	1.41				

2.4 遗传算法求解最优提取工艺条件

以“2.3.2”项下拟合模型为目标函数,使用 Matlab 2014b 软件的 GADS 工具箱,采用遗传算法求解指标成分的最优提取工艺条件。遗传算法工具 GUI 参数设置见表 5;随机搜索 10 次,结果见表 6。由表 6 可知,10 次随机搜索结果的变异范围较小,对目标函数最佳值的逼近程度较好。因此,取 10 次随机搜索的平均水平即 60.872 000%乙醇提取 3.105 564 h、液料比 15.719 832:1 (mL/g),预测综合评分为 2.895 433。

表5 遗传算法工具 GUI 参数设置

Tab 5 GUI parameter setting of genetic algorithm tool

参数	函数及选项	数值
Plot functions	Best fitness	选中
Population	Population type	Double vector
	Population size	Use default;50 for five or fewer variables, otherwise 200
	Creation function	Uniform
Fitness scaling	Scaling function	Rank
Selection	Selection function	Stochastic uniform
Reproduction	Elite count	Use default:0.05 * population size
Mutation	Mutation function	Gaussian
	Scale	1.0
	Shink	1.0
Crossover	Crossover function	Scattered
Migration	Drection	Forward
Hybrid Function	Hybrid function	fininunc
Stopping criteria	Generations	Inf
	Time limit	Inf
	Fitness limit	Inf
	Stall generation	100
	Stall time limit	Inf

2.5 直接搜索算法求解最优提取工艺条件

以“2.3.2”项下拟合模型为目标函数,使用 Matlab 2014b 软件的 GADS 工具箱,采用直接搜索算法求解最优提取工艺条件。直接搜索算法工具 GUI 参数设置见

表 7;随机搜索 10 次,结果见图 3。

表6 遗传算法搜索结果

Tab 6 Search results of genetic algorithm tool

次数	因素			综合评分
	A,%	B,h	C,mL/g	
1	60.872 001	3.105 563	15.719 835	2.895 433
2	60.871 995	3.105 564	15.719 834	2.895 433
3	60.872 004	3.105 564	15.719 833	2.895 433
4	60.872 002	3.105 564	15.719 834	2.895 433
5	60.871 997	3.105 564	15.719 830	2.895 433
6	60.872 000	3.105 564	15.719 835	2.895 433
7	60.871 995	3.105 563	15.719 832	2.895 433
8	60.872 003	3.105 564	15.719 816	2.895 433
9	60.872 001	3.105 564	15.719 836	2.895 433
10	60.872 002	3.105 564	15.719 834	2.895 433
平均值	60.872 000	3.105 564	15.719 832	2.895 433
标准差	3.23 × 10 ⁻⁶	4.22 × 10 ⁻⁷	5.84 × 10 ⁻⁶	
95%置信区间	下限	60.871 998	3.105 563	15.719 828
	上限	60.872 002	3.105 564	15.719 836

表7 直接搜索算法工具 GUI 参数设置

Tab 7 GUI parameter setting of direct search method tool

参数	函数及选项	数值
Start point		60,3,15
Bounds	Lower	50,2,10
	Upper	70,4,20
Poll	Poll method	GPS Positive basis 2N
	Complete poll	On
	Polling order	Consecutive
Search	Complete search	Off
	Search method	None
Mesh	Initial size	1.0
	Accelerator	Off
Cache	Cache	Off
Stopping criteria	Mesh tolerance	0.000 001
	Max iterations	Use default:100 * number of variables
Plot functions	Plot interval	1
	Best function value	选中
	Mesh size	选中
User function evaluation	Evaluate objective and constraint functions	In serial

由图 3 可知,10 次随机搜索结果完全一致。即以 60.871 948%乙醇提取 3.105 560 h、液料比 15.719 849:1 (mL/g),预测最优综合评分为 2.895 433。

2.6 最优提取工艺的确定及工艺验证

根据实际情况,确定各因素结果的小数位数,得到 BBD 响应面法的提取工艺优化结果为 60.88%乙醇提取 3.1 h、液料比 15.72:1(mL/g)。经遗传算法和直接搜索算法优化的最优提取工艺条件与之相差不大,其共同优化结果为 60.87%乙醇提取 3.1 h、液料比 15.72:1 (mL/g)。分别按照以上两种优化工艺条件进行验证试验,每种条件平行操作 6 次,并就综合评分进行统计学配对 t 检验。结果,两种工艺条件下的综合评分比较差异无统计学意义(t = -0.851, P = 0.434 > 0.05),且样品综合评分平均值为 2.903,即采用 BBD 响应面法或结合遗

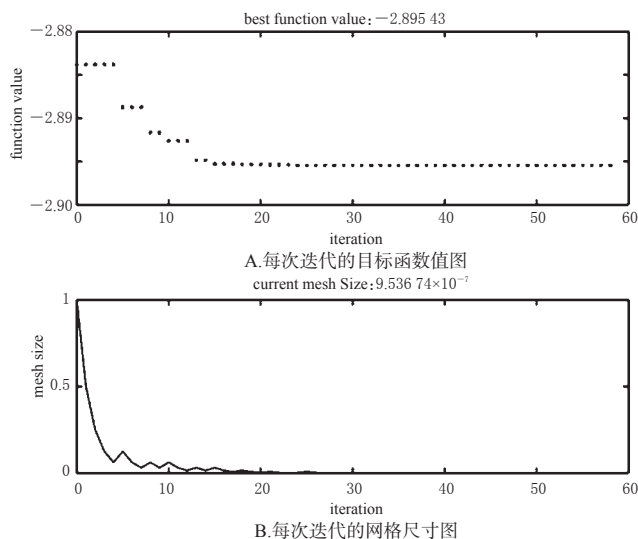


图3 直接搜索算法搜索结果

Fig 3 Search results of direct search method pattern

传算法和直接搜索算法均可较好地对方剂逍遥散中3个指标成分的提取工艺进行优化,且结果无显著性差异。

3 讨论

BBD响应面法是一种条件寻优的试验设计方法,可将复杂的未知函数关系在小区域内用简单的模型来拟合,其计算简便,可减少试验次数、降低成本等,具有可连续对试验各水平进行分析的优势。遗传算法借鉴了生物界自然选择和自然遗传的机制,使原始数据在迭代过程中产生遗传和变异,并从全局的角度去寻找最优试验条件,可有效避免最优试验条件选取时的主观性和局部最优解问题。直接搜索算法可以作为上述优化方法的一个补充,其采用的是模式搜索方法,可搜索出最大、最小正基模式,处理边界约束、线性等式、线性不等式,并且不需要函数可微或连续。但是以上3种方法均存在局限性:BBD响应面法要求设计的试验点必须包括最优试验条件,因此需要对各因素进行尽量精确的控制;遗传算法和直接搜索算法均需事先获得相对准确的目标函数,进而对目标函数进行最小值精确寻优。因此,先采用BBD响应面法建立数学模型、获得目标函数后,再使用遗传算法或直接搜索算法搜索各因素的精确最优值,在优化中药提取工艺方面具有一定优越性。本试验以乙醇体积分数、提取时间和液料比为考察因素,以复方丹桂逍遥散中3种活性成分的综合评分为评价指标,采用BBD响应面法结合遗传算法和直接搜索算法求解各因素的最优取值,可为复方丹桂逍遥散的提取工艺研究提供一定参考。

参考文献

[1] 王虎平,吴红彦. 逍遥散功用述评[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(1): 126-128.

[2] 孙蓉. 芍药苷对局灶性脑缺血模型及血脑屏障的影响[J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2005, 21(4): 408-410.

[3] 葛永斌,程孝中,燕傲蕾,等. 芍药苷抗肿瘤作用机制研究进展[J]. 中药材, 2015, 38(3): 636-639.

[4] LIU DF, WEI W, SONG LH. Protective effect of paeoniflorin on immunological liver injury induced by bacillus Calmette-Guerin plus lipopolysaccharide: modulation of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 mRNA[J]. *Clin Exp Pharmacol P*, 2006, 33(4): 332-339.

[5] YIN J, WU N, ZENG F, et al. Paeonol induces apoptosis in human ovarian cancer cells[J]. *Acta Histochem*, 2013, 115(8): 835-839.

[6] SU SY, CHENG CY, TSAI TH. Paeonol attenuates H₂O₂-induced NF-κB-associated amyloid precursor protein expression[J]. *Am J Chinese Med*, 2010, 38(6): 1171-1192.

[7] LI H, DAI M, JIA W. Paeonol attenuates high-fat-diet-induced atherosclerosis in rabbits by anti-inflammatory activity[J]. *Planta Med*, 2009, 75(1): 7-11.

[8] KOO YK, KIM JM, KOO JY, et al. Platelet anti-aggregatory and blood anti-coagulant effects of compounds isolated from *Paeonia lactiflora* and *Paeonia suffruticosa*[J]. *Pharmazie*, 2010, 65(8): 624-628.

[9] KIM J, KIM HY, LEE SM. Protective effects of geniposide and genipin against hepatic ischemia/reperfusion in mice[J]. *Biomol Ther*, 2013, 21(2): 132-135.

[10] 李敏,王斌,唐志书,等. 黄芩苷、栀子苷对大鼠脑缺血保护作用机制[J]. 中药药理与临床, 2012, 28(3): 34-36.

[11] 姚冬冬,舒雯,杨蕾,等. 栀子苷降糖作用及相关机制研究[J]. 中草药, 2014, 45(8): 1121-1125.

[12] 张文娟,力茂星,张泉龙,等. 栀子苷的快速提取分离及其镇痛抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(21): 170-174.

[13] 杨永红. 丹桂逍遥散6种有效成分的HPLC测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(16): 97-99.

[14] 黄潇,刘婧,彭水梅,等. 响应面法优化栀子中总多酚、总黄酮的提取工艺[J]. 中国药房, 2017, 28(28): 3964-3968.

[15] 边霞,米良. 遗传算法理论及其应用研究进展[J]. 计算机应用研究, 2010, 27(7): 2425-2434.

[16] 杨晓文,韩荣荣,徐彦杰,等. 基于微遗传算法的多目标Box-Behnken设计试验条件优化分析[J]. 中国卫生统计, 2012, 29(3): 337-340.

[17] 蔡志杰,陈德强. 非线性优化的直接搜索算法及收敛性证明[J]. 复旦学报(自然科学版), 2006, 45(3): 396-403, 411.

(收稿日期:2018-04-03 修回日期:2018-05-17)

(编辑:张静)