

向量评估遗传算法优化聚乳酸载药微球工艺^Δ

王 婷*,冯瑞梅,戴 帅,仇丽霞*(山西医科大学卫生统计教研室,太原 030001)

中图分类号 R944.1;R945 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)01-0045-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.01.16

摘要 目的:研究向量评估遗传算法(VEGA)优化聚乳酸载药微球的制备工艺,寻求同时使药物包封率最大及产物平均粒径最小的两目标最佳工艺体系。方法:对均匀设计试验制备聚乳酸载药微球的药物包封率和平均粒径两目标采用VEGA进行优化,影响因素有内水相体积(x_1)、二氯甲烷(DCM)的质量浓度(x_2)、聚乙烯醇(PVA)的质量浓度(x_3)、搅拌速度(x_4)及氯化钠的质量分数(x_5),通过搜索最优制备工艺,比较VEGA搜索载药微球最优处方结果;利用Matlab 2009a外挂SGALAB工具箱Beta 5008完成遗传算法寻优,利用SPSS 17.0软件进行统计分析;并对其处方优化效果进行评价。结果:VEGA进行两目标优化后,最佳工艺中影响因素有 x_2 、 x_4 、 x_5 ,分别为86.68 mg/ml、1 499.48 r/min、0.04%, x_1 和 x_3 因素影响不显著;目标值药物包封率最大达到95.99%,平均粒径最小达到20.80 μm 。结论:VEGA搜索的Pareto非劣解是合理的,确定的最优提取工艺的效果较好,均高于均匀设计中的试验方案。

关键词 聚乳酸载药微球;多目标优化;Pareto非劣解;向量评估遗传算法;均匀设计;包封率;粒径

Optimization of Polylactic Acid-loaded Microspheres by Vector Evaluated Genetic Algorithm

WANG Ting, FENG Rui-mei, DAI Shuai, QIU Li-xia (Dept. of Health Statistics, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the preparation process of Polylactic acid-loaded microspheres by vector evaluated genetic algorithm (VEGA), to seek optimum system of the maximum encapsulation efficiency (EE) and minimum mean diameter (MD) of the product. METHODS: The EE and MD of Polylactic acid-loaded microspheres prepared by uniform design experiment were optimized by VEGA with internal water phase volume (x_1), mass concentration of DCM (x_2), mass concentration of PVA (x_3), stirring rate (x_4) and mass fraction of sodium chloride (x_5) as factors. By exploring the optimal preparation process, the optimal formulation by VEGA was compared. Using SGALAB Beta 5008 of the Matlab 2009a plug-in tool-box, the genetic algorithm optimization had been achieved, and SPSS 17.0 software was used for statistical analysis. The effects of optimal formulation were evaluated. RESULTS: After two-objective optimization by VEGA, the optimal preparation condition was as follows: x_2 was 86.68 mg/ml, x_4 was 1 499.48 r/min, x_5 was 0.04%, there was no significant effect of x_1 and x_3 on EE and MD; the maximum EE was 95.99% and the minimum MD was 20.80 μm . CONCLUSIONS: VEGA provides reasonable Pareto non-inferior solutions. The effect of the optimal extraction process is much better than any other uniform design experiment.

KEYWORDS Polylactic acid-loaded microspheres; Multi-objective optimization; Pareto non-inferior solutions; Vector evaluated genetic algorithm; Uniform design experiment; Encapsulation efficiency; Diameter

在药物最优制备条件的多目标优化问题中,传统方法是多目标问题转化为一个或一系列的单目标优化问题来解决,这样存在极大的主观性。通过这种方式得到的优化解,往往在某一个目标上是最优的,而在另一个目标上可能是较差的,不能保证所有目标都存在最优解,在实际应用中存在不合理的现象。实际上多目标的优化解不是唯一的,是将各个子目标进行协调权衡和折中处理,使各个子目标函数尽可能达到最优,是一组可供选择的、非受控的解方案集,称为Pareto非劣解集^[1]。

向量评估遗传算法^[2-5](Vector evaluated genetic algorithm, VEGA)在解决均匀设计试验的多目标优化问题中,提供合理

的Pareto非劣解集。VEGA是1985年由Schaffer提出的,其开创了多目标优化遗传算法的先河,利用内在并行的方式给出了多目标优化问题的Pareto非劣解集,解决了多目标优化的难题^[1]。

聚乳酸(Polylactic acid or polylactide, PLA)的主要原料为速生资源玉米,经发酵制得乳酸,再以乳酸为主要原料而得到聚合物。其在人体内最终代谢为二氧化碳和水,是经美国FDA批准可用于人体的生物降解材料^[6]。载药微球(Microspheres)是一种新型给药体系,粒径一般较小(1~250 μm),其以高分子材料为载体,制成包裹药物的球形或类球形微粒,可以被细胞融合或被网状内皮系统内吞或被溶酶体中的酶降解后释放出药物^[7]。聚乳酸载药微球具有良好的生物相容性、生物降解性、靶向性和控释性,在药学领域有着广阔的发展前景。本文将聚乳酸载药微球的制备工艺用VEGA进行多目标优化,进而与原文献比较优化结果。前期本课题组已对VEGA进行了效果评价及程序测试,结果可靠,可用于实际问题的分析,为决策者提供选择的空间,达到节省人力、物力,降低研

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30872183)

* 硕士研究生。研究方向:试验设计与优化分析。电话:0351-4135049。E-mail: wangt87@163.com

通信作者:教授,博士。研究方向:试验设计与优化分析。电话:0351-4135049。E-mail: qlx_1126@163.com

完成本的目的。

1 材料

1.1 仪器

UV2300 紫外-可见分光光度计(上海天美科技有限公司); IKA R20.DM 型机械搅拌机(广州仪科设备有限公司); KQ2200-E 型超声分散机(江苏昆山市超声仪器有限公司); LA-920 激光粒度分析仪(日本 Horiba 公司)。

1.2 药品与试剂

线形聚 *d,l*-乳酸(华南农业大学合成,相对分子质量: 1.2×10^4); 二氯甲烷(广州化学试剂厂,分析纯); 亮蓝(英国 Kris 公司,分析纯); PVA-224 聚乙烯醇(日本 Nopco 公司,相对分子质量: 6 000,水解度: 95%)。

2 方法与结果

2.1 两目标(药物包封率与平均粒径)的测定

聚乳酸载药微球用线形聚 *d,l*-乳酸、二氯甲烷、聚乙烯醇等试剂合成,并通过一系列精密仪器测定其含量。以 0.4% 二氯甲烷的乙醇溶液为空白样,通过绘制标准曲线得出亮蓝的质量浓度(c)在 1.0、1.5、2.0、5.0、7.5、10.0 $\mu\text{g/ml}$ 范围内与吸光度(A)的线性关系良好,相关系数达到 0.999 9。影响工艺制备的因素有内水相体积、二氯甲烷质量浓度、聚乙烯醇质量浓度、搅拌速度及氯化钠质量分数,评价工艺的指标有药物包封率($y_1, \%$)和产物平均粒径($y_2, \mu\text{m}$)。进而确定目标值药物包封率与平均粒径的测定方法,按照以下公式进行计算。

载药量 = (微球中亮蓝的质量/微球的质量) $\times 100\%$

包封率 = (微球中亮蓝的质量/所投亮蓝的质量) $\times 100\%$

取适量的聚乳酸载药微球,用少量的注射用水分散后,用激光粒度分析仪即可测定载药微球的平均粒径。

2.2 试验设计及模型拟合

2.2.1 均匀设计试验。采用复乳法制备聚乳酸载药微球,影响工艺的因素有 5 个,即内水相体积(x_1)、二氯甲烷质量浓度(x_2)、聚乙烯醇质量浓度(x_3)、搅拌速度(x_4)及氯化钠质量分数(x_5),每个因素各有 8 个水平,按均匀设计试验 $U_8(8^5)$ 进行 8 次试验,评价工艺的指标有包封率和平均粒径,试验结果见表 1^[8]。

表 1 复乳法制备聚乳酸载药微球均匀设计试验 $U_8(8^5)$ 结果

Tab 1 Results of uniform design $U_8(8^5)$ of Poly(lactic acid)-loaded microspheres prepared by W/O/W emulsion

试验编号	内水相体积(x_1 , ml)	二氯甲烷质量浓度(x_2 , mg/ml)	聚乙烯醇质量浓度(x_3 , mg/ml)	搅拌速度(x_4 , r/min)	氯化钠质量分数(x_5 , %)	包封率(y_1 , %)	平均粒径(y_2 , μm)
1	0.1	70	1.5	1 100	0.7	88.6	60.8
2	0.3	100	2.0	1 400	0.1	97.6	23.8
3	0.8	80	0.5	1 200	0.4	93.8	54.6
4	0.2	50	4.0	1 300	0.3	90.3	48.8
5	0.7	60	3.0	1 000	0.0	95.6	63.3
6	0.6	40	2.5	1 500	0.6	86.1	19.0
7	0.4	30	1.0	900	0.2	94.9	68.8
8	0.5	90	3.5	800	0.5	96.7	77.5

由表 1 可见,2 号方案包封率最大,6 号方案平均粒径最小,两个最优目标不在同一个方案中,于是将 8 次试验结果根据建立的二次回归模型中一次项、二次项的符号,得出最优制备工艺为较高的二氯甲烷质量浓度、较高的搅拌速度及较低的氯化钠质量分数,但并未给出具体解集。

2.2.2 模型拟合。文献数据采用逐步回归方法筛选变量,并对两目标(包封率与平均粒径)分别建立了二次型回归模型^[8]。以

包封率和平均粒径作为评价指标,得到与 x_2, x_4, x_5 的回归模型。

$$\hat{y}_1 = 96.132 38 + 0.001 09x_2^2 - 0.000 059 78x_2x_4 - 0.009 57x_4x_5 \dots\dots\dots (1)$$

$$F = 30.48, P = 0.003 2, r = 0.958 1$$

$$\hat{y}_2 = 101.295 77 - 0.000 035 80x_4^2 \dots\dots\dots (2)$$

$$F = 101.11, P < 0.000 1, r = 0.944 0$$

从公式(1)、(2)可知,两个目标值与因素之间拟合出的模型效果均良好,遗传算法可利用此模型进行两个目标值的优化分析。

2.3 单目标及多目标遗传算法的参数设置

分别以 y_1 和 y_2 为目标函数,用单目标遗传算法分别搜索药物包封率最大值的工艺条件及产物平均粒径最小值的工艺条件:初始种群为 30、单点交叉概率为 0.9、单点变异概率为 0.01、最大进化代数为 100,分别进行 10 次随机搜索。用 VEGA 进行两目标优化,参数设置同单目标优化,进行 12 次随机搜索。

2.4 软件及统计方法

利用课题组编写的 Matlab 2009a 外挂 SGALAB 工具箱 Beta 5008 完成遗传算法寻优,需设置参数和方程,在 Current directory 窗口中,Input text 处设置参数,设置参数有最大进化代数、初始种群、单点交叉概率、单点变异概率,在 SGA.FITNESS.MO_function.m 处设置方程,再打开遗传算法程序 SGALAB_demo_MO_VEGA.点击运行键开始运行程序,即可得出适应度曲线图与一组 Pareto 非劣解集。用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,对运行 VEGA 得到的 Pareto 非劣解集及目标函数数值用中位数、四分位数间距来描述。

2.5 模型转化

由于目标值产物 y_2 要求得到最小值,而 VEGA 搜索得到的结果均为最大值,所以需将 y_2 的模型进行转换, \hat{y}'_2 即为 y_2 的最大转化值,公式如下:

$$\hat{y}'_2 = 100 - (\hat{y}_2) \dots\dots\dots (3)$$

由公式(3)可知,用 VEGA 求得的最大转化值 \hat{y}'_2 通过模型转化即可求出 y_2 的最小值 \hat{y}_2 。

2.6 VEGA 搜索两目标 Pareto 非劣解方案

以 y_1 和 y_2 作为两个目标函数值,采用 VEGA 进行两目标优化分析,以达到 y_1 最大、 y_2 最小的目的。从回归模型公式(1)与(2)可看出,进入模型的因素有二氯甲烷 x_2, x_4 及 x_5 ,则 VEGA 搜索的因素也只有 3 个因素,结果详见表 2。

表 2 VEGA 两目标随机搜索结果

Tab 2 Randomized search results of two-objective by VEGA

随机搜索顺序	二氯甲烷质量浓度(x_2 , mg/ml)	搅拌速度(x_4 , r/min)	氯化钠质量分数(x_5 , %)	包封率(y_1 , %)	平均粒径(y_2 , μm)
1	84.82	1 381.95	0.10	95.26	22.07
2	86.68	1 499.48	0.04	95.99	20.80
3	91.00	1 412.45	0.03	97.10	29.87
4	48.63	1 453.14	0.02	94.18	25.70
5	69.86	1 496.67	0.08	94.02	21.10
6	61.94	1 443.85	0.23	91.77	26.66
7	74.90	1 497.91	0.37	90.17	20.97
8	77.00	1 478.79	0.18	93.29	23.00
9	99.45	1 466.45	0.01	98.04	24.30
10	35.59	1 452.79	0.15	92.35	25.74
11	63.84	1 498.66	0.29	90.67	20.89
12	89.98	1 498.96	0	96.89	20.86

从表 2 可知,第 2 号与第 12 号试验搜索的两目标结果均较优,具有较大的包封率和较小的平均粒径,VEGA 两目标随机

搜索聚乳酸载药微球最优制备工艺即:2号试验 x_2 为86.68 mg/ml, x_4 为1 499.48 r/min, x_5 为0.04%, y_1 最大达到95.99%, y_2 最小达到20.80 μm ;也可选择12号试验工艺,即 x_2 为89.98 mg/ml, x_4 为1 498.96 r/min, x_5 为0, y_1 最大达到96.89%, y_2 最小达到20.86 μm 。可根据试验的具体条件来选择不同工艺。

两目标最大适应度曲线见图1,平均适应度曲线见图2。

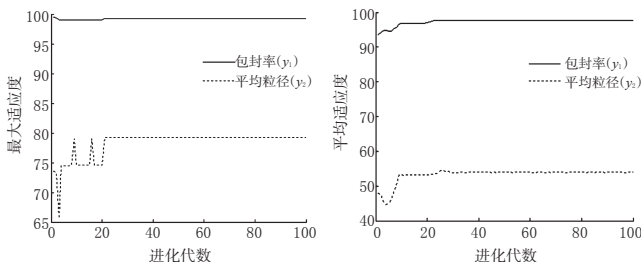


图1 两目标最大适应度曲线 图2 两目标平均适应度曲线
Fig 1 Two-objective maximum fitness-generation Fig 2 Two-objective mean fitness-generation

从图1、图2可知,VEGA在进化22代后 y_1 和 y_2 的最大适应度曲线和平均适应度曲线均达到稳定,分别反映出VEGA具有良好的收敛性和动态性。最大适应度进化曲线反映解的变化,用来评价算法的收敛性;平均适应度进化曲线用来评价遗传算法的动态性能。

两目标VEGA搜索的Pareto非劣解方案平均水平见表3。

表3 两目标VEGA搜索的Pareto非劣解方案平均水平

Tab 3 Average level of Pareto non-inferior solution of VEGA two-objective

考察指标	中位数 (M)	四分位数 间距(QR)	95%可信区间		最大值	最小值
			$P_{2.5}$	$P_{97.5}$		
二氯甲烷质量浓度(x_2 ,mg/ml)	75.95	26.74	35.59	99.45	99.45	35.59
搅拌速度(x_4 ,r/min)	1 472.62	52.38	1 381.95	1 499.48	1 499.48	1 381.95
氯化钠质量分数(x_5 ,%)	0.09	0.19	0	0.375	0.375	0.00
包封率(y_1 ,%)	94.09	4.76	90.17	98.04	98.04	90.17
平均粒径(y_2 , μm)	22.54	4.82	20.80	29.87	29.87	20.80

由表3可知,12次随机搜索结果中, y_1 95%可信区间的精度很高,其中位数为94.09%,四分位数间距为4.76%; y_2 的中位数为22.54 μm ,四分位数间距为4.82 μm ,95%可信区间的精度很高,由此可知VEGA的搜索结果是理想的。

2.7 VEGA两目标遗传算法与单目标搜索最优制备工艺的比较

单目标与VEGA两目标Pareto非劣解方案的比较见表4。

表4 单目标与VEGA两目标Pareto非劣解方案的比较

Tab 4 Comparison of Pareto non-inferior solution between single-objective and VEGA two-objective

方法	目标函数值		对应的因素数值(解方案)		
	包封率 (y_1 ,%)	平均粒径最大 转值(y_2 , μm)	二氯甲烷质量 浓度(x_2 ,mg/ml)	搅拌速度(x_4 , r/min)	氯化钠质量 分数(x_5 ,%)
单目标	99.96	82.42	89.01	822.67	0.06
VEGA两目标	95.99	79.20	86.68	1 499.48	0.04
百分比,%	96.04	96.09			

从表4可知,VEGA两目标遗传算法搜索的目标函数值均小于单目标搜索的函数值,目标函数值偏低正体现了多目标遗传算法的特点,因为多目标优化时将各子目标进行折中处理,尽可能获得各子目标最大的解集^[1]。VEGA两目标搜索的 y_1 达到单目标的96.04%, y_2 达到单目标的96.09%,VEGA遗传

算法的多目标搜索的结果达到了单目标最大函数值的96%以上,结果较为满意。

2.8 VEGA两目标遗传算法与原文献最优制备工艺的比较

原文献数据利用均匀试验设计,将8次试验结果根据建立的二次回归模型中一次项、二次项的符号,得出最优制备工艺为较高的 x_2 、较高的 x_4 及较低的 x_5 ,并无给出具体解集,这种结论带有较强的主观性。VEGA两目标搜索出的最优工艺制备条件为 y_1 最大达到95.99%, y_2 最小达到20.80 μm ,结果优于原文献中均匀试验设计的结果,并给出一组Pareto非劣解集,如表2中的12次随机搜索结果,可供试验者进行合理的选择。

3 讨论

引用原文献中聚乳酸微球制备工艺及均匀试验设计方案^[8],对两目标 y_1 计算最大值及 y_2 计算最小值,VEGA提供了合理的优化方案。VEGA两目标随机搜索聚乳酸载药微球最优制备工艺即: x_2 为86.68 mg/ml, x_4 为1 499.48 r/min, x_5 为0.04%, y_1 最大达到95.99%, y_2 最小达到20.80 μm ;或者 x_2 为89.98 mg/ml, x_4 为1 498.96 r/min, x_5 为0, y_1 最大达到96.89%, y_2 最小达到20.86 μm 。试验者根据试验的具体条件来选择不同工艺。 x_1 与 x_3 均未进入模型,从专业上考虑, x_1 可由相应的药载率而定,而 x_3 在0.5%~8%范围内的任意量对目标均无影响,可采用较小的量达到简化试验的目的。搜索的目标函数值均小于单目标搜索的函数值,目标函数值偏低正体现了多目标遗传算法的特点,因为多目标优化时将各子目标进行折中处理,尽可能获得各子目标最大的解集。

VEGA搜索多目标问题时,能给出优化分析后的解集,即在因素范围内寻出一组Pareto非劣解集,这正是VEGA比原文献的优势之处。对于实际问题的方案决策,必须依据客观存在的条件,从Pareto非劣解中挑出一个或部分解作为所求大目标优化问题的最优解。结果表明:VEGA在均匀试验设计药物最优制备工艺选择的应用是满意的;确定的最优制备条件的效果较好,为研究者提供了精确度较高的试验条件方案,可推广到正交试验设计、析因试验设计的最优条件选择。

参考文献

- [1] 仇丽霞.基于遗传算法的最优决策值选择及医药学应用研究[D].太原:山西医科大学,2007:1-3.
- [2] 王小平,曹立明.遗传算法-理论、应用及软件实现[M].西安:西安交通大学出版社,2001:115-117.
- [3] Wu JZ, Hao XC, Chen FC, et al. A novel bi-vector encoding genetic algorithm for the simultaneous multiple resources scheduling problem[J]. *Journal of Intelligent Manufacturing*, 2012, 23(6): 2 255.
- [4] 崔逊学.多目标进化算法的研究及其应用[M].北京:国防工业出版社,2002:17-19.
- [5] 周建淞.基于向量评估遗传算法的多目标优化效果评价及程序测试[J]. *中国卫生统计*, 2012, 29(2): 181.
- [6] 曹婷颖,顾月清,高向东.聚乳酸载药微球的制备和给药方法[J]. *药学进展*, 2006, 30(10): 448.
- [7] 张海龙,高铃美,邵洪伟.聚乳酸载药微球的制备及应用研究进展[J]. *西北药学杂志*, 2010, 25(2): 158.
- [8] 林雅铃.均匀试验设计在水溶性药物聚乳酸微球制备中的应用[J]. *中国医院药学杂志*, 2009, 29(7): 531.

(收稿日期:2013-05-21 修回日期:2013-06-19)