

小生境遗传算法多目标优化金莲花的醇提工艺^Δ

吴小娟^{1*}, 刘春艳¹, 王晓美¹, 白云娥², 仇丽霞^{1#}(1.山西医科大学公共卫生学院, 太原 030001; 2.山西医科大学药学院, 太原 030001)

中图分类号 R284.2; R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0228-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.12

摘要 目的: 采用小生境遗传算法两目标优化金莲花的醇提工艺。方法: 以乙醇体积分数、提取时间、提取次数、乙醇用量为考察因素, 以出膏率和总黄酮含量为评价指标, 采用正交试验并结合小生境遗传算法两目标优选金莲花的醇提工艺。结果: 最优的醇提工艺为乙醇体积分数为70.47%, 提取时间为1.2 h, 提取次数为3次, 乙醇用量为生药量的11.46倍。在此条件下, 金莲花醇提的出膏率、总黄酮质量分数分别为39.86%和11.49%。结论: 所选工艺合理、可行, 可用于金莲花的提取, 表明小生境遗传算法可用于选择药材的提取条件。

关键词 金莲花; 小生境遗传算法; 多目标优化; Pareto非劣解; 出膏率; 总黄酮

Multi-objective Optimization of Ethanol Extraction Conditions of *Trollius chinensis* Based on Niche Pareto Genetic Algorithm

WU Xiao-juan¹, LIU Chun-yan¹, WANG Xiao-mei¹, BAI Yun-e², QIU Li-xia¹(1.School of Public Health, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 2.School of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the ethanol extraction technology of *Trollius chinensis* by niched pareto genetic algorithm in multi-objective optimization problem. METHODS: The ethanol extraction technology of *T. chinensis* was optimized by orthogonal test combined with niched pareto genetic algorithm in multi-objective optimization with mass fraction of ethanol, extracting time, extracting times and amount of ethanol as factors using the yield of extract and the contents of total flavonoids as index. RESULTS: The optimal ethanol extraction technology was as follows: mass fraction of ethanol was 70.47%; extraction time was 1.2 h and extracting times was 3 times; the amount of ethanol was 11.46 times as drugs. The extraction yield and the content of total flavonoids were 39.86% and 11.49%. CONCLUSIONS: The technology is reasonable and feasible, and it can be used for the extraction of *T. chinensis*. Niched pareto genetic algorithm can be used for the extraction of it.

KEYWORDS *Trollius chinensis*; Niched pareto genetic algorithm; Multi-objective optimization; Pareto non-inferior solution; Extraction rate; Total flavonoids

在药物有效成分最优提取条件研究中, 常采用正交设计安排试验^[1]。正交试验是多因素、多水平药物提取试验中常用的方法, 当要求多个有效成分同时最大时, 传统优化方法常将多目标问题转化为一个或一系列的单目标优化问题来完成, 它只给出了试验的唯一解, 故存在极大的主观性。实际上多目标优化的解不是唯一的, 而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, 它是一组可供选择的、非受控的解方案集, 称为Pareto非劣解集^[2]。

近年发展起来的遗传算法是一种全空间的全局优化的方法, 能让多目标优化获得一组Pareto非劣解集, 为决策者提供一个选择空间。小生境遗传算法(Niche pareto genetic algorithm, NPGA)是一种基于Pareto竞争选择的方法, 具有很高的全局寻优能力和收敛速度, 特别适合于复杂多峰函数的优化, 它可以提供合理的Pareto非劣解集, 且程序可靠, 效果理

想^[3-6]。本课题组旨在采用已摸索出的金莲花醇提工艺的正交试验数据^[7], 用NPGA探索最优提取工艺, 给出试验的Pareto非劣解集, 为药物多目标有效成分最优提取条件的选择提供可行的方法, 达到节省人力、物力, 提高有效成分提取效率, 降低研究成本的目的。

金莲花(*Trollius chinensis* Bunge)为毛茛科金莲花属一年生或多年生草本植物^[8-9]。临床研究表明, 金莲花有良好的抑菌作用, 对急慢性的扁桃腺炎、咽炎、上呼吸道感染和泌尿系统感染等有显著疗效, 其有效作用成分为总黄酮。然而, 黄酮类成分在一定体积分数的乙醇溶液中溶解度较好。笔者曾以乙醇为溶剂, 采用正交试验优选了金莲花中总黄酮的提取工艺。根据前期试验结果, 笔者再以出膏率和总黄酮含量为目标(其中, 以总黄酮含量为主目标), 用二次项回归模型建模, 对得出的模型进行两目标优化, 得到金莲花的最佳醇提工艺, 为金莲花制剂的研制提供必要的参考依据。

1 材料

1.1 仪器

RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); 752紫外光栅分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); BS-124S 电子天

^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。E-mail: wht_159@163.com

通信作者: 教授, 博士研究生导师, 博士。研究方向: 试验设计与优化分析。电话: 0351-4135049

平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);XSZ-81显微镜(梧州市光学仪器厂);解剖镜(杭州光学电子仪器厂);H-H-S恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂);超声波清洗器(北京医疗设备二厂)。

1.2 药材

金莲花,2005年7月采集于山西历山,经山西医科大学白云娥副教授鉴定为金莲花。

1.3 试剂

芸香苷对照品(中国食品药品检定研究院,批号:100080-200306);石油醚(分析纯,天津化学试剂有限公司);甲醇(分析纯,天津市基准化学有限公司,批号:050310);聚酰胺薄膜(上海化工试剂厂);其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 出膏率和总黄酮含量的测定

2.1.1 出膏率的测定 称取10.0 g金莲花粗粉,加热回流提取,滤过,合并滤液,用旋转蒸发器减压浓缩,水浴蒸发至浸膏状,于60℃常压干燥至恒质量,称量,按下式计算出膏率(出膏率=浸膏质量/金莲花质量×100%)。

2.1.2 总黄酮含量的测定 称取105℃常压干燥至恒质量的浸膏约1 g,研细,加甲醇50 ml,浸泡24 h,超声(功率:250 W,频率:30 kHz)20 min,重复操作1次,合并滤液,移至100 ml量瓶中,用少量甲醇洗涤容器,洗液并入量瓶中,加甲醇稀释至刻度,摇匀,即得样品液。精密量取样品液10 ml,置100 ml量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,再精密量取4 ml,置25 ml量瓶中,加水至6 ml,加5%亚硝酸钠溶液1 ml,使混匀,放置6 min,加10%硝酸铝溶液1 ml,摇匀,放置6 min,加5%氢氧化钠溶液10 ml,再加水至刻度,摇匀,放置15 min,在500 nm波长处测定吸光度(A)。以A为纵坐标,芸香苷质量浓度(c)为横坐标,进行线性回归,得回归方程为 $A=11.0011c+0.0011$ ($r=0.9996$),根据回归方程计算样品中总黄酮含量。

2.2 正交试验设计

根据笔者经验,选择乙醇体积分数(x_1)、提取时间(x_2)、提取次数(x_3)、乙醇用量(x_4)为考察因素,每个因素选取3个水平,按 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验。因素与水平见表1。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	$x_1, \%$	x_2, h	$x_3, \text{次}$	$x_4, \text{倍}$
1	55	0.5	1	8
2	65	1.0	2	10
3	75	1.5	3	12

2.3 醇提工艺两目标遗传算法的参数设置

利用课题组编写的Matlab2009a外挂SGALAB工具箱beta5008完成遗传算法寻优。参数设置:采用二进制编码,以出膏率、总黄酮含量为目标函数,NPGA进行两目标优化:初始种群=30,最大进化代数=100,单点交叉概率=0.80,变异概率=0.05,对两目标同时优化,随机搜索12次。

3 结果

3.1 正交试验结果

取金莲花粗粉适量,按表1安排进行试验,并根据“2.1”项下方法计算出膏率(y_1)和提取物中的总黄酮含量(y_2),并以此为评价指标优选工艺。正交试验结果见表2。

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal tests

试验号	$x_1, \%$	x_2, h	$x_3, \text{次}$	$x_4, \text{倍}$	$y_1, \%$	$y_2, \%$
1	55	0.5	1	8	21.0	5.28
2	55	1.0	2	10	30.0	7.82
3	55	1.5	3	12	41.5	11.81
4	65	0.5	2	12	35.0	9.37
5	65	1.0	3	8	36.0	11.11
6	65	1.5	1	10	25.5	7.17
7	75	0.5	3	10	34.5	9.85
8	75	1.0	1	12	26.0	7.86
9	75	1.5	2	8	30.0	9.10

3.2 数学模型的建立

以 y_1, y_2 分别为因变量,建立二次回归模型:以 y_1 为因变量, x_1, x_2, x_3, x_4 为自变量,采用逐步回归进行建模,模型方程为 $y_1=15.67923+0.03460x_1x_2+0.65638x_3x_4$,在 $\alpha_A=\alpha_{AB}=0.15$ 时,模型的 $F=51.03, P=0.0002$,表明模型有统计学意义,决定系数 $R^2=0.9445$,说明包含4个自变量的回归方程可解释醇提工艺出膏率变异性的94.45%;以 y_2 为因变量, x_1, x_2, x_3, x_4 为自变量,采用逐步回归进行建模,模型方程为 $y_2=1.417+2.108x_3+0.003x_1x_4+0.115x_2x_4$,在 $\alpha_A=\alpha_{AB}=0.15$ 时,模型的 $F=22.54, P=0.0025$,表明模型有统计学意义,决定系数 $R^2=0.9311$,说明包含4个自变量的回归方程可解释总黄酮含量变异性的93.11%。

3.3 单目标遗传算法搜索金莲花最佳醇提工艺

3.3.1 以出膏率为评价指标 单目标遗传算法随机搜索12次,结果出膏率的平均水平为40.20%,四分位数间距为2.1049%,95%可信区间的精度较高,说明每次搜索对目标函数值的逼近程度较好。最优提取条件可依据试验的可操作性选择12次随机搜索结果平均水平,即乙醇体积分数为66.63%、提取时间为1.23 h、提取次数为3次、乙醇用量为11倍。也可选择12次随机搜索结果中出膏率最高的方案,即乙醇体积分数为67.93%、提取时间为1.26 h、提取次数为3次、乙醇用量为11.88倍,此时的出膏率可达到42.25%。

3.3.2 以总黄酮含量为评价指标 单目标遗传算法随机搜索12次,结果总黄酮质量分数的平均水平为11.56%,四分位数间距为0.4756%,95%可信区间的精度较高,说明每次搜索对目标函数值的逼近程度较好。最优提取条件可依据试验的可操作性选择12次随机搜索结果平均水平,即乙醇体积分数为70.36%、提取时间为1.40 h、提取次数为3次、乙醇用量为11倍,此时的总黄酮质量分数可达到11.56%。也可选择12次随机搜索结果中总黄酮含量最高的方案,即乙醇体积分数为73.15%、提取时间为1.48 h、提取次数为3次、乙醇用量为11.75倍,此时的总黄酮质量分数达到12.09%。

3.4 NPGA搜索金莲花醇提工艺两目标 Pareto 非劣解方案

以出膏率和总黄酮含量为两个目标函数,采用NPGA进行两目标优化分析,以达到出膏率和总黄酮含量均最大的目的。金莲花醇提工艺的两目标 Pareto 非劣解方案见表3;NPGA最大适应度曲线见图1;NPGA平均适应度曲线见图2;两目标 Pareto 非劣解方案平均水平见表4。

由图1、图2可知,金莲花醇提工艺的出膏率及总黄酮含量的最大适应度与平均适应度分别在10、11代之后都基本稳定。出膏率的最大适应度和平均适应度都约为40%;总黄酮

表3 金莲花醇提工艺的两目标非劣解方案

Tab 3 Two-objective of Pareto non-inferior solution on ethanol extraction of *T. chinensis*

搜索序号	$x_1, \%$	x_2, h	$x_3, \text{次}$	$x_4, \text{倍}$	$y_1, \%$	$y_2, \%$
1	62.972 6	1.413 4	2.976 5	11.021 5	40.314 4	11.565 0
2	64.760 6	0.807 1	2.780 4	11.843 4	39.110 1	10.678 3
3	66.206 6	0.775 6	2.866 7	11.060 7	38.276 2	10.643 3
4	67.349 8	1.492 1	2.905 9	10.551 9	39.310 9	11.485 2
5	68.659 0	1.263 8	2.717 6	11.718 2	39.606 9	11.262 5
6	69.968 2	1.492 1	2.733 3	11.585 1	40.106 0	11.598 6
7	70.974 6	1.074 8	2.976 5	11.608 6	41.015 5	11.598 0
8	71.248 2	1.437 0	2.992 2	10.935 4	40.727 1	11.869 0
9	71.658 5	0.948 8	2.741 2	11.342 5	38.454 8	10.871 4
10	72.293 6	0.791 3	2.749 0	11.616 4	38.629 9	10.788 5
11	74.423 5	1.129 9	2.780 4	11.921 7	40.366 7	11.489 0
12	74.892 5	1.460 6	2.874 5	11.272 0	40.763 1	11.902 4

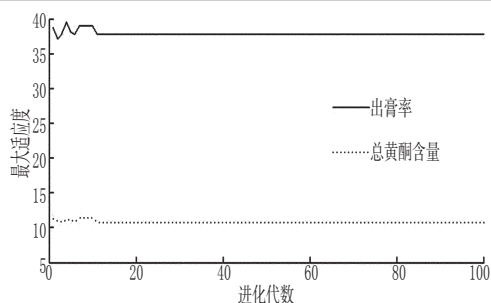


图1 NPGA最大适应度曲线

Fig 1 NPGA MAX fitness-generation curves

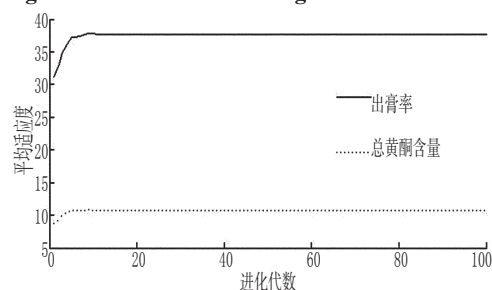


图2 NPGA平均适应度曲线

Fig 2 NPGA mean fitness-generation curves

表4 两目标Pareto非劣解方案平均水平

Tab 4 The average values of two-objective of Pareto non-inferior solution

因素	$M \pm QR$	95% 解的分布	
		$P_{2.5}$	$P_{97.5}$
x_1	70.471 4 ± 5.642 4	67.253 0	71.981 6
x_2	1.196 8 ± 0.612 2	0.990 0	1.357 8
x_3	2.823 5 ± 0.215 7	2.775 3	2.907 0
x_4	11.463 8 ± 0.661 4	11.109 1	11.637 1
y_1	39.856 4 ± 1.887 1	39.113 8	40.333 1
y_2	11.487 1 ± 0.789 3	11.024 1	11.601 1

含量的最大适应度与平均适应度相近,约为11%,搜索水平达到了稳定的效果。平均适应度进化曲线用来评价遗传算法的动态性能,最大适应度进化曲线反映解的变化,用来评价遗传算法的收敛性。由表3、表4可知,金莲花醇提工艺评价指标随机搜索的12次结果中出膏率的平均水平为39.86%,四分位数间距为1.887 1%,95%可信区间的精度较高;总黄酮质量分数的平均水平为11.49%,四分位数间距为0.789 3%,95%可信

区间的精度较高,说明每次搜索对目标函数值的逼近程度较好。最优提取条件可依据试验的可操作性选择12次随机搜索结果的平均水平,即乙醇体积分数为70.47%、提取时间为1.2 h、提取次数为3次、乙醇用量为11.46倍;也可选择12次随机搜索结果中总黄酮含量最高的12号方案,即体积乙醇体积分数为74.89%、提取时间为1.46 h、提取次数为3次、乙醇用量为11.27倍,此时出膏率为40.76%,总黄酮含量达到11.90%。根据试验目的的不同,选择的方案就不同,这正好印证了多目标优化的解不是唯一的。

3.5 单目标遗传算法与NPGA搜索的金莲花最佳醇提工艺比较

为了验证NPGA优化工艺的合理性,对单目标遗传算法与NPGA优化的工艺进行对比。在醇提工艺的两目标搜寻中得到的目标平均值略小于单目标的结果,因为多目标优化时将各子目标进行折中处理,尽可能得到单个子目标的最大值。NPGA搜索得到的出膏率和总黄酮含量分别达到了单目标遗传算法的94.34%和95.04%,可见NPGA在两目标上均达到了单目标的94%以上,效果较满意。单目标遗传算法与NPGA两目标Pareto非劣解方案的比较见表5。

表5 单目标遗传算法与NPGA两目标Pareto非劣解方案的比较

Tab 5 Comparison of single-objective and two-objective of Pareto non-inferior solution on NPGA

目标数	评价指标		影响因素			
	$y_1, \%$	$y_2, \%$	$x_1, \%$	x_2, h	$x_3, \text{次}$	$x_4, \text{倍}$
单目标	42.25		67.926 2	1.255 9	2.905 9	11.882 6
		12.09	73.153 4	1.476 4	2.843 1	11.749 5
多目标	39.86	11.49	70.471 4	1.196 8	2.823 5	11.463 8

4 讨论

本试验利用金莲花醇提工艺的实例,分别采用单目标和多目标遗传算法对工艺条件进行优化,探索了遗传算法在没有精确解的中药提取工艺中的应用,确定了金莲花有效成分的提取条件。结果表明,NPGA两目标搜索的出膏率达到单目标遗传算法的94.34%,其主要目标总黄酮含量达到单目标遗传算法的95.04%,NPGA在两目标上均达到了单目标最大函数值的94%以上,说明优化的效果良好。

由对金莲花醇提工艺的两个评价指标的单目标遗传算法优化分析可知,每次随机搜索的结果都是对其最大目标函数值的逼近,搜索结果相对稳定,由于遗传算法是一种随机搜索方法,进行单目标优化时,可进行多次搜索,取最好的结果或平均水平作为最优提取条件。再者,单目标优化的目标函数值的结果可与多目标优化结果进行比较,用于判断多目标优化的效果。在醇提工艺中多目标NPGA所到达的目标函数值都略小于单目标的目标函数值,这是由于多目标优化时将各子目标进行折中处理,尽可能获得各自目标最大的解,说明多目标优化中不能同时保证每个目标达到最大,但能提供Pareto最优解集。单目标遗传算法可以为研究提供精度较高的试验条件,多目标遗传算法可为中药研究提供可供选择的方案。本试验为优化金莲花醇提工艺提供了合理的方法;同时,此法也可以推广到其他药物的最优提取工艺的选择。

参考文献

[1] 周本杰. 泽泻降脂有效部位提取工艺的筛选研究[J]. 中国

毛蕊花苷固体脂质纳米粒的处方优选及其质量评价^Δ

丁立新*, 杨珊珊, 张楠楠, 李 焕, 李冬阳, 王丽红(佳木斯大学药学院黑龙江省生物药剂剂重点实验室, 黑龙江佳木斯 154007)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)03-0231-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.03.13

摘要 目的: 优选毛蕊花苷(VER)固体脂质纳米粒(SLN)的处方, 并对VER-SLN质量进行评价。方法: 采用乳化超声分散法制备VER-SLN, 以包封率为评价指标, 以药脂质量比、单硬脂酸甘油酯用量、泊洛沙姆188用量、豆磷脂用量为考察因素, 通过正交试验对处方进行优化, 同时以载药量、粒径、Zeta电位、包封率、稳定性及体外累积释放度为指标评价其质量。结果: 最佳制备处方为药脂质量比为1:75, 单硬脂酸甘油酯的用量为0.6 g, 泊洛沙姆188用量为0.5 g, 豆磷脂用量为0.2 g。所制得的VER-SLN外观形态圆整, 粒度分布均匀, 平均粒径为(109±17) nm, Zeta电位为(-23±0.91) mV, 平均包封率为96.66%, 平均载药量为2.27%。体外释放结果表明, VER原料药体外8 h累积释放完全, VER-SLN体外4 h累积释放率为47.2%, 48 h可达到92.9%。结论: 该制剂处方设计合理, 制备工艺稳定, 乳化超声分散法制备的VER-SLN质量符合要求, 可达到使药物缓慢释放的效果。

关键词 毛蕊花苷; 固体脂质纳米粒; 质量研究; 体外累积释放度

Preparation Optimization and Quality Evaluation of Verbascoside Solid Lipid Nanoparticles

DING Li-xin, YANG Shan-shan, ZHANG Nan-nan, LI Huan, LI Dong-yang, WANG Li-hong (Pharmacy School of Jiamusi University, Heilongjiang Key Lab of Biological Preparations, Heilongjiang Jiamusi 154007, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To optimize the prescription of Verbascoside solid lipid nanoparticles (VER-SLN) and to evaluate the quality of it. METHODS: VER-SLN was prepared by emulsion ultrasound dispersing method. The formulation of VER-SLN was optimized by orthogonal design with the entrapment efficacy as index using the ratio of drug to lipid, amount of glyceryl monostearate, poloxamer 188 and fabaceous lecithin as factors. The quality of preparation was evaluated with drug-loading amount, particle size, Zeta potential, entrapment efficiency, stability and in vitro drug release rate as index. RESULTS: The optimal formulation was as follows: drug:lipid ratio of 1:75(m/m), the amount of glycerol glyceryl monostearate of 0.6 g, the amount of poloxamer 188 of 0.5 g and the amount of fabaceous lecithin of 0.2 g. The obtained VER-SLN was round and smooth particles with average size of (109±17) nm, Zeta potential of (-23±0.91) mV, average entrapment efficiency of 96.66%, and average drug-loading amount of 2.27%. VER solution was released completely within 8 h, and accumulative release rate of VER-SLN was 47.2% at 4 h and reached 92.9% at 48 h. CONCLUSIONS: The formulation is reasonable and stable. VER-SLN prepared by emulsification ultrasonic dispersion method is up to quality standard and can reach sustained-release effects.

KEYWORDS Verbascoside; Solid lipid nanoparticle; Quality study; In vitro drug release rate

固体脂质纳米粒(SLN)是20世纪90年代初发展起来的新型胶体给药系统^[1], 是以固态类脂化合物(天然或合成)为载

体, 将药物包裹于类脂核中制成的固态胶粒, 是一种理想的载体材料^[2-3]。将药物制成SLN不仅可以提高生物利用度^[4-5], 而

- 药房, 2006, 17(2): 103.
- [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: 1-344.
- [3] Horn J, Nafpliotis N, Goldberg DE. A niched pareto genetic algorithm for multiobjective optimization[C]//Piscataway: IEEE World Congress on Computational Computation, 1994: 82-87.
- [4] 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.
- [5] 师先锋. 小生境遗传算法效果评价及程序测试[J]. 中国卫生统计, 2011, 28(4): 361.
- [6] 李飞莹. 基于小生境遗传算法的多目标药物提取条件优化分析应用[J]. 中国卫生统计, 2010, 27(6): 577.
- [7] 白云娥. 金莲花的质量标准及其总黄酮的提取、富集工艺研究[D]. 太原: 山西医科大学, 2008.
- [8] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海: 上海人民出版社, 1977: 1-2 769.
- [9] 叶绍明, 李药兰. 金莲花提取工艺[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(6): 463.

Δ 基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究项目(No.12521559); 佳木斯大学大学生科技创新项目(No.xs2013-127); 佳木斯大学科学技术重点项目(No.Sjz2012-24)

* 教授, 硕士研究生导师。研究方向: 天然产物分离与分析。电话: 0454-8611271。E-mail: dlx200475@163.com

(收稿日期: 2013-01-27 修回日期: 2013-04-25)