

DOI:10.11656/j.issn.1672-1519.2023.02.17

藜芦有效成分提取工艺优化^{*}

张蒙蒙¹,魏淑婕¹,沈家圆¹,欧阳慧子²,常艳旭¹,何俊¹

(1. 天津中医药大学,组分中药国家重点实验室,天津 301617;2. 天津中医药大学第一附属医院,天津 300193)

摘要:[目的] 借助正交实验与统计分析软件(JMP)实验设计模型优化藜芦有效成分的提取工艺。[方法] 采用单因素实验、正交实验优化乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取次数,通过分析芥芬胺和藜芦胺的含量差异确定提取工艺。[结果] 模型所得最佳工艺参数与正交实验结果相符,为乙醇体积分数 70%,时间 2 h,提取 3 次,液料比 15:1(mL/g)。在此工艺下,芥芬胺和藜芦胺含量分别为 1.60、2.98 mg/g,相对标准偏差(RSD)分别为 1.0%、1.1%。[结论] 该提取工艺稳定,可用于藜芦中有效成分的提取。

关键词: 藜芦;芥芬胺;藜芦胺;统计分析软件;工艺优化

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1672-1519(2023)02-0228-06

藜芦(*Veratrum nigrum* L.)又名山葱、葱葵、丰芦等^[1],是中国传统的中草药,富含生物碱、黄酮、有机酸等天然活性成分,具有降血压、抗肿瘤、抗氧化、抗炎镇痛等作用^[2-8]。甾体生物碱被认为是藜芦的活性物质基础,以芥芬胺、藜芦胺为代表成分^[9-11]。芥芬胺为介藜芦型生物碱,藜芦胺为藜芦胺型生物碱,均具备 C-nor-D-homo-[14(13→12)-abeo]环系,A、B、D 均为六元环,C 为五元环,其相似的化学结构表征两者可能具有相同的药理活性^[12-18]。近年来对藜芦的提取分离、含量测定、配伍及药理作用的研究较多^[19-20],提取工艺的讨论较为少见。文章对藜芦提取工艺进行优化研究,研究过程中引入了统计分析软件(JMP)实验设计模型,以验证正交实验数据的可行性与有效性。JMP 软件是一种交互式可视化统计发现软件,其在医药行业中的用途有实验设计和数据的统计分析。工艺优化需考察多种因素及水平对工艺参数的影响,因此科学合理地设计实验、筛选关键影响因素对提供全面可靠的数据是十分重要的^[21-23]。研究以藜芦中芥芬胺和藜芦胺的含量作为评价指标,采用单因素实验、正交实验及 JMP 软件实验设计模型考察乙醇体积分数、液料比、提取

时间、提取次数 4 种因素对主要活性成分提取的影响,确定最佳提取工艺。

1 材料

1.1 仪器 Agilent1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);AX 205 型十万分之一(瑞士 Mettler Toledo 公司)天平;Milli-Q 超纯水制备仪(Millipore 公司);3K15 型高速离心机(美国 sigma 公司);XW-80A 型涡旋混合器(上海沪西分析仪器厂)。

1.2 试药 甲醇、乙腈均为色谱纯,购自美国 Fisher 公司;甲酸为色谱纯,购自美国 ROE 公司;95%乙醇为分析纯,购自天津市康科德科技有限公司;对照品芥芬胺(批号:DST190407-087,HPLC≥98%)、藜芦胺(批号:DST190108-024,HPLC≥99%)由成都德思特生物技术有限公司提供;藜芦购自安徽亳州药材市场。

2 方法与结果

2.1 芥芬胺、藜芦胺含量测定

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Agilent ZORBAX SB-C18 柱(4.6 mm×100 mm,1.6 μm);流动相:A 相 0.1% 甲酸水,B 相 乙腈;梯度洗脱:0~20 min,15%~35% B;20~25 min,35%~37% B;25~28 min,37%~95% B。检测波长:0~21.8 min,254 nm;21.8~28 min,205 nm。流速:0.5 mL/min,柱温:30 ℃;进样量:5 μL。结果见图 1。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取芥芬胺和藜芦胺对照品适量至 5 mL 的容量瓶中,分别以甲醇溶解并定容至刻度,配制成浓度为 1 mg/mL 的对照

^{*} 基金项目:天津市科技计划项目(20ZYJDJC00120)。

作者简介:张蒙蒙(1997-),女,硕士研究生在读,主要研究方向为药物分析。

通讯作者:何俊,E-mail:hejun673@163.com。

引用格式:张蒙蒙,魏淑婕,沈家圆,等. 藜芦有效成分提取工艺优化[J]. 天津中医药,2023,40(2):228-233.

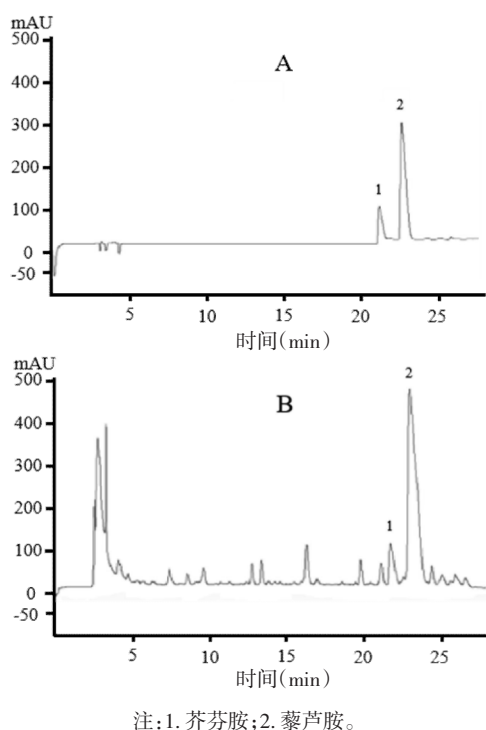


图1 对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig.1 Chromatograms of reference substance (A) and sample (B)

品溶液,4℃冰箱储存备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取藜芦粗粉(过2号筛)10 g,加入80%乙醇150 mL,加热回流提取2 h,回流提取2次,两次药液合并,4℃冰箱储存备用。

2.1.4 线性关系考察 精确量取“2.1.2”项下对照品溶液适量,以甲醇稀释至分别含有芥芬胺和藜芦胺500 μg/mL的混合对照溶液,将此溶液用甲醇依次稀释2、2.5、2、2.5、2、2.5倍得9个不同浓度的溶液,按“2.1.1”项下色谱条件,以待测物峰面积(Y)为纵坐标,待测物的浓度(X)为横坐标,得芥芬胺峰、藜芦胺面积与浓度的线性关系分别为 $Y=23.102X-15.653, r^2=0.9991, 0.5\sim 500\text{ }\mu\text{g/mL}$; $Y=70.769X+139.630, r^2=0.9992, 0.5\sim 500\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。表明各成分线性关系良好。

2.1.5 精密实验 精密吸取“2.1.4”项下混合对照品溶液适量,以甲醇稀释5倍后按“2.1.1”项下色谱条件测定连续进样测定6次,相对标准差(RSD)值分别为3.9%和2.2%,表明仪器精密密度良好。

2.1.6 稳定性实验 精密吸取“2.1.3”项下供试品溶液适量,按“2.1.1”项下方法于0、3、6、12、24 h测定芥芬胺和藜芦胺峰面积,24 h内RSD值分别为1.1%和1.0%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.1.7 重复性实验 精密称取藜芦粗粉6份,每份10 g,以“2.1.3”项下方法平行制备供试品溶液,按“2.1.1”项下方法测定芥芬胺和藜芦胺的含量,RSD值分别为2.8%和1.4%,表明该方法重复性良好。

2.1.8 加样回收率 精密称取藜芦粗粉6份,每份5 g,分别准确加入一定量的芥芬胺和藜芦胺对照品溶液,再加入80%乙醇至150 mL,按“2.1.3”项下方法制备并测定,计算芥芬胺和藜芦胺平均回收率分别为103.0%和98.8%,RSD为1.5%和2.7%。

2.2 单因素实验

2.2.1 乙醇体积分数 精密称取藜芦样品10 g,共4份,分别加入体积分数为50%、60%、70%、80%的乙醇,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,以“2.1.1”项下色谱条件测定芥芬胺和藜芦胺含量。结果见图2 A,乙醇体积分数为60%时,芥芬胺含量最高,体积分数为70%时,藜芦胺含量最高,且芥芬胺含量未明显下降,故确定乙醇体积分数为60%、70%、80%。

2.2.2 液料比 精密称取藜芦样品10 g,共4份,分别加入提取溶液使得液料比为5:1、10:1、15:1、20:1,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,以“2.1.1”项下色谱条件测定芥芬胺和藜芦胺含量。结果见图2 B,液料比为20:1时,藜芦胺含量最高,芥芬胺含量较高,且两者的含量总和最高,故确定液料比为10:1、15:1、20:1。

2.2.3 提取时间 精密称取藜芦样品10 g,共4份,提取时间分别为1 h、1.5 h、2 h、2.5 h,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,以“2.1.1”项下色谱条件测定芥芬胺和藜芦胺含量。结果见图2 C,提取时间为1 h时芥芬胺与藜芦胺的提取含量总和最高,故确定提取时间为1 h、1.5 h、2 h。

2.2.4 提取次数 精密称取藜芦样品10 g,共3份,提取次数分别为1、2、3次,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,测定芥芬胺和藜芦胺含量。结果见图2 D,提取次数为3次时,芥芬胺和藜芦胺的提取效果最好,故确定提取次数为1、2、3次。

2.3 建立 JMP 实验设计模型

2.3.1 模型设计 基于单因素实验结果,采用 JMP 软件4因素3水平的定制设计筛选藜芦芥芬胺和藜芦胺含量的影响因素,因素水平设置见表1。

2.3.2 预测结果 JMP 软件设计出具有数据分析意义的实验列表,并对响应值进行模拟,模拟结果见表2。结果表明,该模型预测 $A_1B_3C_3D_3$ 实验条件

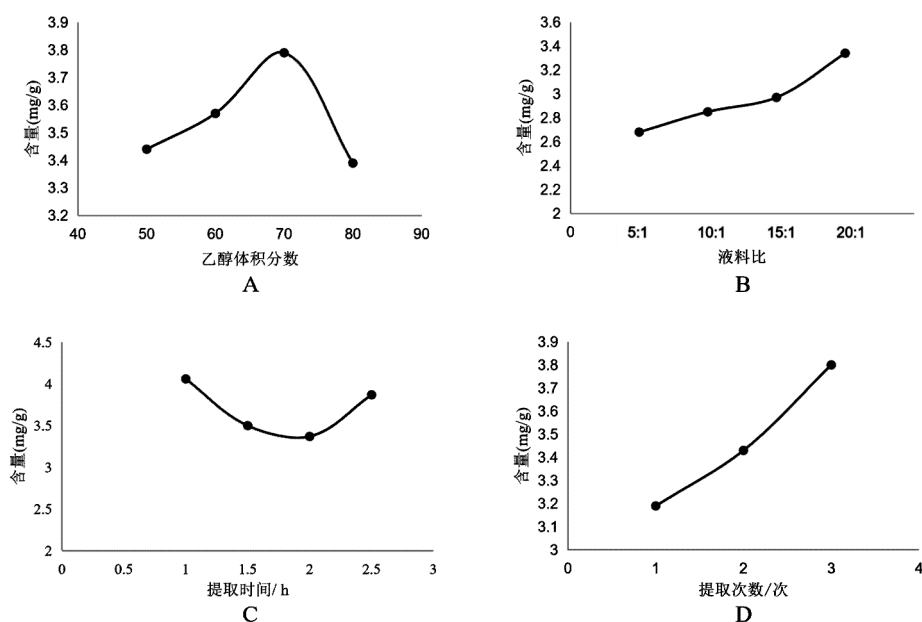


图2 乙醇体积分数(A)、液料比(B)、提取时间(C)和提取次数(D)对提取效果的影响

Fig.2 Effects of ethanol volume fraction (A), liquid-to-solid ratio (B), extraction time (C) and extraction times (D) on extraction effect

表1 定制设计实验因素水平值

Tab.1 Values of different factors investigated with custom design experiment

水平	因素			
	A 乙醇(%)	B 提取次数(次)	C 提取时间(h)	D 液料比
1	60	1	1.0	10:1
2	70	2	1.5	15:1
3	80	3	2.0	20:1

下响应值最高,即乙醇体积分数 60%,提取次数 3 次,提取时间 2 h,液料比 20:1 工艺条件下提取的芥芬胺与藜芦胺总量最高。

2.3.3 数据处理及模型拟合 应用 JMP 软件对表 2 中的结果进行最小二乘法拟合分析,根据 P 值找出影响响应值的关键因素, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,结果见表 3。由表 3 可知乙醇体积分数、提取次数、提取时间、液料比 P 值均大于 0.05,表明 4 种因素均对提取工艺有影响,但并非影响提取含量的关键因素,模型预测结果需进一步验证。

2.4 正交实验 根据单因素实验结果,在乙醇体积分数、液料比、提取时间、提取次数 4 因素下分别设置 3 水平,以芥芬胺和藜芦胺含量为考察指标进行 $L_9(3^4)$ 正交实验,确定最佳提取工艺条件。因素水平设计见表 1。按照表 1 进行 4 因素 3 水平正交实验,实验结果见表 4。提取工艺最优参数与 JMP 软件实

表2 实验条件表及模拟响应值

Tab.2 Conditions in the experiments and values of simulated response

实验号	因素				模拟响应值
	A	B	C	D	
1	1	3	3	3	7.44
2	3	3	1	1	5.01
3	1	2	2	1	0.28
4	2	1	3	1	3.18
5	2	3	2	2	3.34
6	2	2	1	3	3.43
7	3	2	3	2	5.04
8	1	1	1	2	1.75
9	3	1	2	3	4.97

表3 提取工艺筛选拟合分析效应汇总

Tab.3 Summary of effects of fitting analysis in extraction process screening

因素	对含量的响应 P 值
乙醇(%)	0.224 7
提取次数(次)	0.202 8
提取时间(h)	0.230 2
液料比	0.129 9

验设计模型所得结果一致。

极差 $R_B > R_C > R_A > R_D$,即影响藜芦提取物中芥芬胺和藜芦胺含量的主次因素为提取次数>提取时

间>乙醇浓度>液料比,其结果与方差分析结果一致,见表 5。根据均值进行分析可得出藜芦提取的最佳工艺条件为 A₂B₃C₃D₂,即乙醇体积分数 70%,提取次数 3 次,提取时间 2 h,液料比 15:1。

表 4 正交实验结果

Tab.4 Results of orthogonal experimental

实验号	因素				含量(mg/g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	3.08
2	1	2	2	2	3.92
3	1	3	3	3	4.32
4	2	1	2	3	3.54
5	2	2	3	1	4.10
6	2	3	1	2	4.12
7	3	1	3	2	3.64
8	3	2	1	3	3.75
9	3	3	2	1	4.21
K1	3.77	3.42	3.65	3.80	
K2	3.92	3.92	3.89	3.89	
K3	3.87	4.22	4.02	3.87	
R	0.15	0.80	0.37	0.10	

表 5 正交实验结果方差分析

Tab.5 Analysis of variance of orthogonal experiment results

因素	偏差平方和	自由度	F 比	F 临界值	显著性
A	0.033	2	2.200	19	P<0.05
B	0.974	2	64.933	19	
C	0.211	2	14.067	19	
D	0.015	2	1.000	199	
误差 e	0.010	2	-	-	

2.5 验证实验 精密称取藜芦样品 3 份,每份 10 g,置入 250 mL 圆底烧瓶中,按优化工艺进行验证实验,即加入 70%乙醇 150 mL,回流提取 3 次,每次 2 h,合并滤液后放置室温,补足失重,取上清液经 0.45 μm 有机微孔滤膜过滤后按“2.1.1”项下色谱条件测定,结果显示芥芬胺和藜芦胺含量的平均值分别为 1.60、2.98 mg/g, RSD 分别为 1.0%、1.1%。结果表明该工艺稳定可行。

2.6 等高线图分析 采用 JMP 软件对正交实验结果以标准最小二乘法回归分析,分析结果见表 6,参数估计值见表 7,模型与正交实验方差分析结果一致,表明正交实验结果真实有效^[23]。利用 JMP 软件在完成回归方程模型的基础上,借助等高线图直观反映各因素变化对考察指标的影响情况。本研究 4 种因素两两交互作用对芥芬胺、藜芦胺提取总含量的交

互影响情况如图 3 所示。等高线图将变量描绘在二维图表中,横纵坐标分别代表各自变量,等高线颜色指示含量与该关系的符合程度。图 3 中显示本研究中各因素两两之间的相关性较弱,当其中 1 项变化时,另一项并不会随之变化^[24],该结论提示正交实验结果有效,所确定工艺为最优提取工艺。

表 6 模型方差分析结果

Tab.6 Outcomes of model by analysis of variance

源	自由度	平方和	均方	F 比
模型	4	1.178 5	0.294 6	21.311 0
误差	4	0.055 3	0.013 8	概率>F
校正总和	8	1.233 8	-	0.005 8

注:R²=0.955 2,调整 R²=0.910 4, RMSE=0.117 6。

表 7 模型参数估计值

Tab.7 Estimated values of model parameters

项	估计值	标准误差	t 比	概率> t
截距	2.065 0	0.406 4	5.08	0.007 1*
乙醇(%)	0.004 7	0.004 8	0.97	0.386 0
提取次数(次)	0.398 3	0.048 0	8.30	0.001 2*
提取时间(h)	0.370 0	0.096 0	3.85	0.018 2*
液料比	0.007 3	0.009 6	0.76	0.487 5

注:*P<0.05。

3 讨论

藜芦是中国传统中药,其化学成分复杂,包括生物碱类、黄酮类、二萜类、芪类等,具有多种药效^[2-8]。芥芬胺与藜芦胺为藜芦中主要生物碱型化合物,具有阻断声波刺猬(Shh)信号通路^[25]、信号转导抑制作用,是藜芦发挥药效作用的物质基础。

常用的生物碱提取方法有酸水提取法、亲脂性有机溶剂提取法、醇类溶剂提取法、超声提取法、酶提取法等。由于酸水提取法腐蚀性和成盐损耗大、亲脂性有机溶剂毒性高、超声或酶提取法造价高等缺陷,尚未广泛应用于大规模生产,乙醇提取法具有工艺简单、经济便捷、效率高等优点广受厂家青睐,因此本实验选用乙醇提取法。

为降低药效成分在生产过程中的损耗、优化提取效率、增强药效,实验在单因素控制条件下,共考察了影响芥芬胺和藜芦胺提取的 4 个因素:乙醇体积分数、提取时间、提取次数、液料比。同时分别设置了 3 水平,进行正交实验。根据正交实验结果得知,工艺为乙醇体积分数为 70%,液料比为 15:1,提取 3 次,每次 2 h,芥芬胺与藜芦胺含量最高,可达 1.60、2.98 mg/g。同样可由表中数据得知,影响藜芦

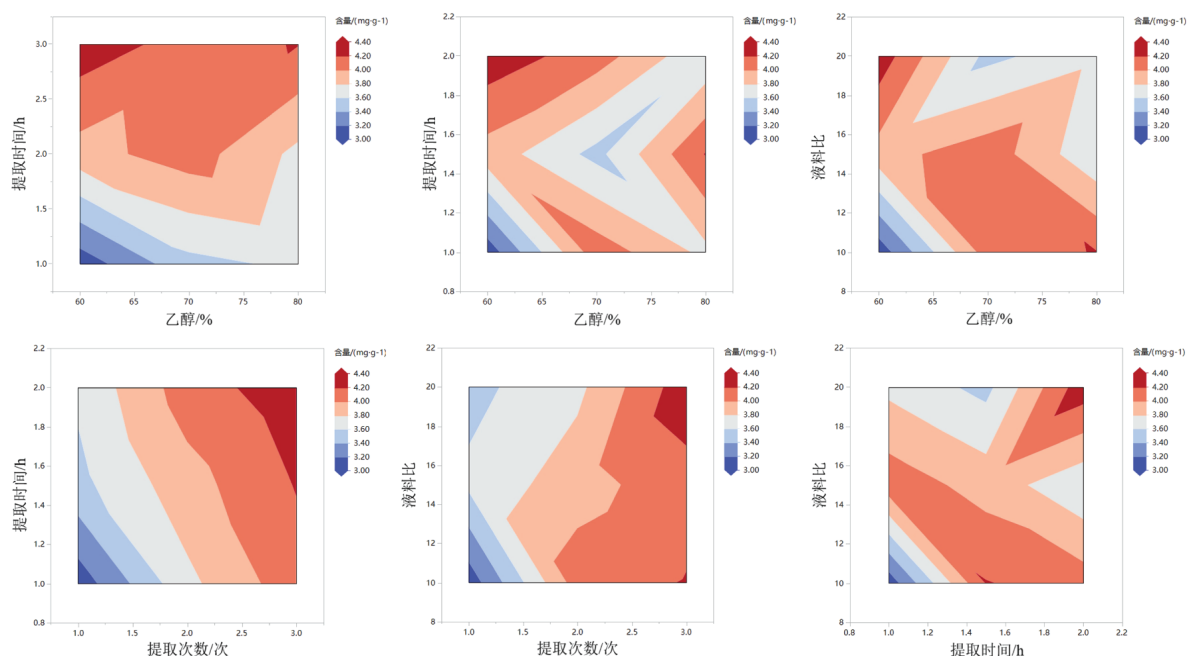


图3 各因素对芥芬胺、藜芦胺提取总含量的交互影响

Fig.3 Interaction effects of various factors on the total content of Jervine and Veratramine extracted

提取物中含量的主次因素为提取次数>提取时间>乙醇浓度>液料比。运用 JMP 软件定制设计实验模型,并对正交实验结果以标准最小二乘法回归分析,模型结果与正交实验结果一致,表明正交实验结果真实有效。同时在此基础上,借助等高线图直观反映各因素变化对考察指标的影响情况,全面立体地筛选最佳提取工艺。实验提取得到的芥芬胺与藜芦胺含量较高,工艺稳定,可为藜芦的进一步开发研究提供理论依据。

参考文献:

- [1] 孙玉海.早春放牧慎防藜芦中毒[J].吉林畜牧兽医,2020,41(6):66.
SUN Y H. Beware of hellebore poisoning in early spring grazing [J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2020, 41(6): 66.
- [2] 贾晓华,王维,高梦园,等.基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析藜芦中化学成分[J].天津中医药大学学报,2021,40(1):104-111.
JIA X H, WANG W, GAO M Y, et al. Chemical component analysis of Veratrum by UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2021, 40(1): 104-111.
- [3] 张蒙珍,高丽娟,徐世芳,等.藜芦属植物甾体生物碱及其药理活性研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(21):5129-5142.
ZHANG M Z, GAO L J, XU S F, et al. Advances in studies on steroidal alkaloids and their pharmacological activities in genus Veratrum[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(21): 5129-5142.
- [4] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草·蒙药卷[M].上海:上海科学技术出版社,2004:369.
Chinese Materia Medica Editorial Committee of the State Adminis-
- tration of Traditional Chinese Medicine. Chinese materia medica: Mongolia medicine volume[M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2004: 369.
- [5] 时嘉敏,林立五,何翠林,等.毛叶藜芦的化学成分研究[J].华西药理学杂志,2020,35(2):117-121.
SHI J M, LIN L W, HE C L, et al. Study on the chemical constituents of Veratrum grandiflorum[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020, 35(2): 117-121.
- [6] 杨振柄,文锋.藜芦药理及作用简况[J].中国实用医药,2016,11(20):282-283.
YANG Z Y, WEN F. Pharmacology and actions of veratrum [J]. China Practical Medicine, 2016, 11(20): 282-283.
- [7] SHANG Y H, DU Q D, LIU S M, et al. Antitumor activity of isosteroidal alkaloids from the plants in the genus Veratrum and Fritillaria[J]. Current Protein & Peptide Science, 2018, 19(3): 302-310.
- [8] 徐瞰海,徐雅红.藜芦属植物化学成分和药理作用[J].国外医药(植物药分册),2002,17(5):185-189.
XU T H, XU Y H. Veratrum Phytochemical composition and pharmacological effects [J]. Drugs and Clinic, 2002, 17(5): 185-189.
- [9] SZELIGA M, CIURA J, TYRKA M. Representational difference analysis of transcripts involved in jervine biosynthesis[J]. Life (Basel, Switzerland), 2020, 10(6): 88.
- [10] FAN Y Q, ZHAO L L, HUANG X H, et al. UPLC-MS/MS method for the simultaneous quantification of eight compounds in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of Veratrum (Veratrum nigrum L.) extract[J]. BioMed Research International, 2020, 2020: 8883277.
- [11] CONG Y, GUO J G, TANG Z, et al. Metabolism study of veratramine

- associated with neurotoxicity by using HPLC-MSn[J]. Journal of Chromatographic Science, 2015, 53(7): 1092-1099.
- [12] LI Q, et al. Seven new veratramine-type alkaloids with potent analgesic effect from *Veratrum taliense*[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 244: 112137.
- [13] LIU M, LU X X, ZHANG J M, et al. Teratogenic jervine increases the activity of doxorubicin in MCF-7/ADR cells by inhibiting ABCB1[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 117: 109059.
- [14] ZHENG B J, WANG C H, SONG W W, et al. Pharmacokinetics and enterohepatic circulation of jervine, an antitumor steroidal alkaloid from *Veratrum nigrum* in rats[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2019, 9(5): 367-372.
- [15] LEI W, et al. Jervine inhibits non-small cell lung cancer (NSCLC) progression by suppressing Hedgehog and AKT signaling via triggering autophagy-regulated apoptosis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 533(3): 397-403.
- [16] YIN L L, XIA Y H, XU P, et al. Veratramine suppresses human HepG2 liver cancer cell growth in vitro and in vivo by inducing autophagic cell death[J]. Oncology Reports, 2020, 44(2): 477-486.
- [17] BAI F, LIU K D, LI H L, et al. Veratramine modulates AP-1-dependent gene transcription by directly binding to programmable DNA[J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(2): 546-557.
- [18] NAGATA R. Mechanisms of veratramine-induced 5-HT syndrome in mice[J]. Japanese Journal of Pharmacology, 1991, 55(1): 139-146.
- [19] 马莹慧, 郭淑英, 张慧锋, 等. UPLC-MS 法测定藜芦丹参配伍前后吸收转运变化情况[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(5): 1064-1067.
- MA Y H, GUO S Y, ZHANG H F, et al. Study of absorption and transport of *Veratrum nigrum* and *Salvia miltiorrhiza bunge* by UPLC-MS method[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2019, 37(5): 1064-1067.
- [20] 郭丽娜, 郑茜. 基于 GC/TOF-MS 代谢组学方法的人参反藜芦研究[J]. 山西医科大学学报, 2019, 50(12): 1738-1744.
- GUO L N, ZHENG Q. GC/TOF-MS-based metabolomics study on Ginseng in combination with *Veratrum nigrum*[J]. Journal of Shanxi Medical University, 2019, 50(12): 1738-1744.
- [21] 苏颖, 白杰, 蔡正军, 等. 运用 JMP 软件的试验设计对甲钴胺片进行处方研究[J]. 中南药学, 2020, 18(5): 781-784.
- SU Y, BAI J, CAI Z J, et al. Formula of mecobalamin tablets with JMP software[J]. Central South Pharmacy, 2020, 18(5): 781-784.
- [22] 吴建伟, 余俊先. 头孢克肟颗粒杂质检测的均匀设计及优化[J]. 中国医院用药评价与分析, 2020, 20(10): 1216-1220.
- WU J W, YU J X. Uniform design and optimization for impurity detection of cefixime granule[J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2020, 20(10): 1216-1220.
- [23] 吴繁, 刘化勇, 丁雪梅, 等. 基于 JMP 软件中定制设计的纯棉和纯毛织物熨烫参数优化对比研究[J]. 毛纺科技, 2016, 44(4): 10-14.
- WU F, LIU H Y, DING X M, et al. Comparison study of optimizing cotton and wool fabric's ironing parameters based on custom designs methodology, a unit of JMP[J]. Wool Textile Journal, 2016, 44(4): 10-14.
- [24] 张大翰, 李萌, 王新悦, 等. D-最优混料设计优化肉苁蓉速溶咖啡加工工艺[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(23): 9233-9241.
- ZHANG D H, LI M, WANG X Y, et al. Design the formulation of instant *Cistanche deserticola* coffee and optimize its manufacturing process[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(23): 9233-9241.
- [25] QIN Y T, JIANG M, TUERXUNG N, et al. Sonic hedgehog signaling pathway in Myelodysplastic Syndrome: Abnormal activation and jervine intervention[J]. Gene, 2020, 754: 144881.

(收稿日期: 2022-11-11)

(本文编辑: 高杉, 滕晓东)

Optimization of extraction process of effective ingredients in *Veratrum Nigrum* L.

ZHANG Mengmeng¹, WEI Shujie¹, SHEN Jiayuan¹, OUYANG Huizi², CHANG Yanxu¹, HE Jun¹

(1. State Key Laboratory of Component-based Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract: [Objective] With the help of the experimental design model and orthogonal experiment of JMP software, the extraction process of the active components of *Veratrum Nigrum* L. was optimized. [Methods] Single factor experiment and orthogonal experiment were used to optimize the ethanol volume fraction, material-to-liquid ratio, extraction time, and extraction times. The extraction process was determined by analyzing the content difference of jervine and veratramine. [Results] Optimal process obtained by the model is equal to the actual experimental results. The best process parameters as follows: the volume fraction of ethanol was 70%, 2 hours each time, the extraction times were 3 times and ratio of liquid to material was 15:1 (mL/g). Under the optimized conditions, the contents of jervine and veratramine were 1.60 mg/g and 2.98 mg/g, and the RSD was 1.0% and 1.1%, respectively. [Conclusion] The extraction process was stable and could be used for the extraction of effective ingredients in *Veratrum Nigrum* L.

Keywords: *Veratrum Nigrum* L.; jervine; veratramine; JMP; process optimization