

# 炒九香虫的炮制工艺优化及其质量标准的建立

梁清光<sup>1</sup>, 严冬慧<sup>1</sup>, 赵斌<sup>2\*</sup>, 孟江<sup>1\*</sup>, 王淑美<sup>1</sup>, 张村<sup>3</sup>

- (1. 广东药科大学 中药学院, 国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点实验室,  
广东高校中药质量工程技术研究中心, 广州 510006;  
2. 中山火炬职业技术学院, 广东 中山 528436;  
3. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 优选炒九香虫的炮制工艺, 并建立其质量标准。方法: 采用滚筒式炒药机, 以炮制温度、炮制时间、炒药机转速为炮制因素, 以镇痛率、多巴胺二聚体含量和醇溶性浸出物得率为考察指标, 在单因素试验基础上, 通过正交试验优选九香虫的炒制工艺, 利用最佳工艺对 10 个不同批次的九香虫进行炒制, 并测定其总灰分和醇溶性浸出物的含量。结果: 炒九香虫的最佳工艺为炒制温度 170 ℃, 炒制时间 5 min, 炒药机转速 50 r·min<sup>-1</sup>。建议炒九香虫的总灰分定为不超过 5.2%, 醇溶性浸出物不得少于 16.8%。结论: 优选的炮制工艺合理可靠、稳定性好、方法简便, 为规范炒九香虫饮片的炮制工艺和质量标准提供科学依据。

**[关键词]** 九香虫; 炮制工艺; 正交试验; 镇痛率; 多巴胺二聚体; 醇溶性浸出物

**[中图分类号]** R283; R943.1; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)17-0022-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017170022

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170609.1517.014.html>

**[网络出版时间]** 2017-06-09 15:17

## Optimization of Processing Technology of Stir-baked *Aspongopus* and Establishment of Its Quality Standard

LIANG Qing-guang<sup>1</sup>, YAN Dong-hui<sup>1</sup>, ZHAO Bin<sup>2\*</sup>, MENG Jiang<sup>1\*</sup>, WANG Shu-mei<sup>1</sup>, ZHANG Cun<sup>3</sup>

- (1. *Engineering Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of Universities in Guangdong Province, Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica, State Administration of Traditional Chinese Medicine (TCM), School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;*  
2. *Zhongshan Torch Polytechnic, Zhongshan 528436, China;* 3. *Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize the processing technology of stir-baked *Aspongopus* and establish its quality standard. **Method:** Stir-baking processing technology was optimized by taking processing temperature, processing time and speed of stir-baking machine as independent variables, content of dopamine dimer, analgesic rate of *Aspongopus*, yield of alcohol soluble extracts as evaluation indexes, single factor tests and orthogonal test were adopted. Ten different batches of *Aspongopus* were stir-baked by the best processing technology, then the content of total ash and alcohol soluble extracts were determined. **Result:** The best technology of stir-baked

**[收稿日期]** 20170328(007)

**[基金项目]** 国家中医药管理局中医药行业科研专项(201207004-7); 国家药典委员会全国中药炮制规范项目(y-pz-2014)

**[第一作者]** 梁清光, 在读硕士, 从事中药炮制与质量标准研究, Tel: 15626477215, E-mail: 1018990276@qq.com

**[通讯作者]** \* 赵斌, 博士, 教授, 从事中药炮制及饮片质量标准研究, Tel: 0760-88291255, zhaobin3226794@163.com;

\* 孟江, 博士, 教授, 从事中药炮制及饮片质量标准研究, Tel: 020-39352169, E-mail: jiangmeng666@126.com

Aspongopus was as follows: processing temperature at 170 °C, processing time of 5 min, speed of 50 r·min<sup>-1</sup>. It was recommended total ash content of stir-baked Aspongopus be not more than 5.2% and alcohol soluble extracts should not be less than 16.8%. **Conclusion:** The optimized process is reasonable and reliable with good stability and simple method, which can provide a scientific basis for standardizing the processing technology and quality standard of Aspongopus.

**[Key words]** Aspongopus; processing technology; orthogonal test; analgesic rate; dopamine dimer; alcohol soluble extract

九香虫性温,味咸,归肝、脾、肾经,具理气止痛、温中助阳的功效,用于治疗胃寒胀痛、肝胃气痛、肾虚阳痿、腰膝酸痛<sup>[1]</sup>,临床常用九香虫来治疗胃痛、痛经、肾炎、遗精、阳痿等疾病<sup>[2]</sup>。九香虫炒制后质地酥脆,易于溶出有效成分,提高疗效<sup>[3]</sup>,而目前关于九香虫的炒制,大多以“炒黄”或“炒至有香气”为判断的依据。关于其炮制工艺及炒九香虫的质量标准,尚未见相关的研究报道,故未能保证其工艺的规范化和质量的稳定性。本实验以九香虫镇痛率、多巴胺二聚体含量和醇溶性浸出物得率为考察指标,采用正交试验考察炮制温度、炮制时间、炒药机转速对炒九香虫炮制工艺的影响,并对其进行总灰分和浸出物测定,建立炒九香虫规范化的炮制工艺和质量标准,以保证其临床使用的安全有效。

## 1 材料

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),CY-20 型滚筒式炒药机(江阴市祝塘明科机械厂),BP211D 型 1/10 万电子天平(德国 Sartorius 公司),JP-150A 型高速多功能粉碎机(永康市久品工贸有限公司),DIIG-9140A 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),SX2-4-10 型高温箱形电炉(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

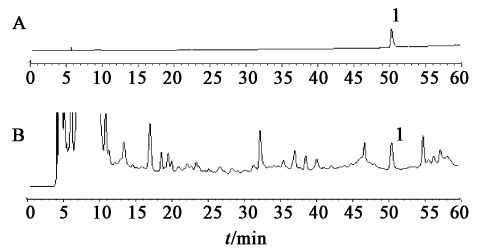
九香虫药材购自康美药业股份有限公司 2 批(批号 160709071,160600341),广东至信药业股份有限公司 3 批(批号 169801,150701,160101),安徽广印堂中药股份有限公司 1 批(批号 15071),湖南省弘华中药饮片有限公司 1 批(批号 140102),广东时珍制药有限公司 1 批(批号 140102),广州市岭南中药饮片有限公司 1 批(批号 1610001)和江西樟树天齐堂中药饮片有限公司 1 批(批号 1603003),均经广东药科大学中药学院刘基柱副教授鉴定为蜻科昆虫九香虫 *Aspongopus chinensis* 的干燥体;多巴胺二聚体对照品(深圳大学程永现教授友情赠送,纯度 >95%),阿司匹林肠溶片(广州采芝林药业有限公司,批号 BJ24230),水为屈臣氏蒸馏水,甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

SPF 级 KM 雄性小鼠购于广州中医药大学实验动物中心,体重(20 ± 2) g,合格证号 SCXK(粤)2013-0020。本实验经广州中医药大学实验动物伦理委员批准。

## 2 方法与结果

### 2.1 多巴胺二聚体的含量测定

**2.1.1 色谱条件** 采用 Ultimate™ XB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇(B)-水(A)梯度洗脱(0 ~ 45 min, 15% ~ 45% B),检测波长设定 280 nm,进样量 10 μL,流速 0.6 mL·min<sup>-1</sup>,柱温 30 °C。见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 多巴胺二聚体

图 1 九香虫的 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatograms of Aspongopus

**2.1.2 标准曲线绘制** 精密称取多巴胺二聚体对照品 2.103 mg 于 1 mL 量瓶中,加甲醇定容,得 2.103 g·L<sup>-1</sup> 对照品母液,精密量取该对照品母液 50 μL 于 2 mL 量瓶中,加甲醇定容,过 0.22 μm 微孔滤膜,得 52.575 mg·L<sup>-1</sup> 对照品溶液,4 °C 冰箱保存备用;按 2.1.1 项下色谱条件依次进样 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30 μL,以峰面积对进样量进行线性回归,得多巴胺二聚体的回归方程  $Y = 476\ 975X - 13\ 869$  ( $R^2 = 0.999\ 9$ ),线性范围 0.320 ~ 1.580 μg。

**2.1.3 供试品溶液的制备** 将炮制后的九香虫粉碎,过 2 号筛(24 目),精密称取该粉末 0.5 g 置于 25 mL 锥形瓶中,加入 70% 甲醇 5 mL,摇匀,超声(100 W, 40 kHz)提取 40 min,过滤,取滤液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,4 °C 冰箱保存备用。

**2.1.4 精密度试验** 取同一供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件连续进样 6 次,结果多巴胺二聚体峰

面积的 RSD 1.2%,表明仪器精密良好。

**2.1.5 稳定性试验** 取同一供试品溶液,分别于制备后 0,1.5,3,7.5,12,24 h 按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果多巴胺二聚体峰面积的 RSD 1.5%,表明供试品溶液在 24 h 内较稳定。

**2.1.6 重复性试验** 取同一炮制条件下的九香虫粉末约 0.5 g,共 6 份,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,结果多巴胺二聚体平均质量分数 0.728 8 mg·g<sup>-1</sup>,RSD 1.5%,表明该方法重复性良好。

**2.1.7 加样回收率试验** 精密称量已知多巴胺二聚体质量分数(0.712 1 mg·g<sup>-1</sup>)的九香虫粉末 6 份,每份约 0.25 g,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入 2.103 g·L<sup>-1</sup>对照品溶液 90 μL,分别加 70% 甲醇定容至 5 mL,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件测定,计算平均加样回收率 104.18%,RSD 2.2%,符合定量测定要求。

**2.2 镇痛试验** 将九香虫炮制品粉碎,过 2 号筛,精密称取粉末 5 g,加 8 倍量水室温浸泡 30 min,煎煮,保持微沸 30 min,过滤,残渣加 8 倍量水煎煮,保持微沸 30 min,过滤,合并滤液,浓缩成生药质量浓度 0.5 g·mL<sup>-1</sup>的水煎液,4 ℃ 冰箱保存备用。将阿司匹林肠溶片研成粉末,称取 1.078 8 g 置于 10 mL 量瓶中,用生理盐水定容,得 107.88 g·L<sup>-1</sup>阿司匹林肠溶片溶液,4 ℃ 冰箱保存备用。

取 KM 雄性小鼠 110 只,随机分成 11 组,包括 9 个给药组、阳性组和空白组,每组 10 只,实验前禁食给水 12 h,给药组分别腹腔注射 9 批正交试验的九香虫炮制品水煎液(0.02 mL·g<sup>-1</sup>),阳性组腹腔注射阿司匹林肠溶片溶液(0.02 mL·g<sup>-1</sup>),空白组腹腔注射生理盐水(0.02 mL·g<sup>-1</sup>);30 min 后腹腔注射 0.6% 冰乙酸,观察 20 min 内小鼠出现扭体反应(腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高)次数,计算镇痛率。镇痛率=(空白组扭体反应次数-给药组扭体反应次数)/空白组扭体反应次数×100%。

**2.3 醇溶性浸出物的测定** 按 2015 年版《中国药典》四部(通则 2201)项下热浸法测定,以 50% 乙醇作溶剂,测定九香虫炮制品的醇溶性浸出物得率。

**2.4 单因素试验考察** 九香虫的炒制程度为文火加热,炒至有香气,颜色加深<sup>[4]</sup>,综合文献[5-6],取 15 份样品进行炮制,每份 10 g,选择炮制时间、炒药机转速、炮制温度为考察因素,评价指标为醇溶性浸出物得率和多巴胺二聚体含量。见表 1。结果发现随着炮制温度的上升,多巴胺二聚体含量呈反抛物

线状态变化,而醇溶性浸出物得率呈先下降后上升的趋势,且上升后的醇溶性浸出物得率处于较高水平,故选择 170,190,210 ℃ 作为炮制温度的正交试验水平;随着炮制时间的增加及炒药机转速的加快,多巴胺二聚体和醇溶性浸出物得率均呈现下降趋势,故分别选择 5,10,15 min 及 10,30,50 r·min<sup>-1</sup> 作为正交试验水平。

表 1 九香虫炮制工艺优选的单因素试验分析

Table 1 Single factor test analysis of processing technology of *Aspongopus* %

炮制因素	水平	多巴胺二聚体质量分数	醇溶性浸出物得率
炮制温度	130 ℃	0.108 4	26.48
	150 ℃	0.071 8	25.36
	170 ℃	0.060 2	25.91
	190 ℃	0.089 0	26.59
	210 ℃	0.094 8	27.93
炮制时间	5 min	0.088 6	28.32
	10 min	0.069 2	25.47
	15 min	0.071 3	26.56
	20 min	0.054 7	26.35
	25 min	0.071 7	25.18
炒药机转速	10 r·min <sup>-1</sup>	0.116 6	28.52
	30 r·min <sup>-1</sup>	0.074 8	26.38
	50 r·min <sup>-1</sup>	0.095 0	27.67
	70 r·min <sup>-1</sup>	0.077 6	26.49
	90 r·min <sup>-1</sup>	0.077 8	26.23

**2.5 正交试验** 在单因素试验基础上,选取炒制温度、时间、转速为考察因素,以镇痛率、多巴胺二聚体含量和醇溶性浸出物得率为评价指标,称取九香虫 9 份,每份 10 g,按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表进行试验设计,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。按各评价指标在工艺优选中的主次地位,分别给予 40%,30%,30% 的加权系数<sup>[7]</sup>。综合评分=(各样品中镇痛率/样品中最高镇痛率)×40%+(各样品中多巴胺二聚体含量/样品中多巴胺二聚体最高含量)×30%+(各样品中醇溶性浸出物得率/样品中醇溶性浸出物最高得率)×30%。由直观分析可知,各因素对炮制工艺的影响顺序为 A>B>C。方差分析结果表明因素 A 具有显著性影响,而因素 B, C 则无显著性影响,结合实际情况确定最佳炮制工艺为 A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>,即炒制温度 170 ℃,炒制时间 5 min,炒药机转速 50 r·min<sup>-1</sup>。

**2.6 验证试验** 为考察该工艺的稳定性,按优选的工艺条件炮制 3 份样品(每份 50 g)进行验证试验,

表 2 九香虫炮制工艺优选的正交试验分析

Table 2 Orthogonal test analysis of processing technology of *Aspongopus*

No.	A 温度/℃	B 时间/min	C 转速/ $r \cdot \min^{-1}$	D(空白)	多巴胺二聚体质量分数	镇痛率	醇溶性浸出物得率	综合评分
1	170	5	10	1	0.071 2	83.05	28.59	95.75
2	170	10	30	2	0.065 2	83.43	27.47	92.22
3	170	15	50	3	0.070 8	82.10	28.94	95.53
4	190	15	30	3	0.043 5	88.57	25.13	82.89
5	190	10	50	1	0.058 5	69.14	27.17	82.87
6	190	15	10	2	0.058 0	81.14	24.47	85.08
7	210	5	50	2	0.057 5	92.00	28.26	93.52
8	210	10	10	3	0.052 5	88.38	24.13	85.56
9	210	15	30	1	0.059 2	85.33	26.44	89.45

表 3 综合评分的方差分析

Table 3 Variance analysis of comprehensive score

方差来源	SS	F	MS	P
A	178.190	22.501	89.10	<0.05
B	25.049	3.159	12.52	>0.05
C	9.789	1.221	4.89	>0.05
D(误差)	7.900		3.95	

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19$ 。

结果多巴胺二聚体平均质量分数 0.074 7%, RSD 1.6%; 平均镇痛率 82.81%, RSD 1.4%; 醇溶性浸出物平均得率 27.41%, RSD 1.2%, 表明该工艺稳定可行。

**2.7 总灰分和浸出物的测定** 采用优选的炮制工艺对 10 个不同批次的九香虫进行炒制, 依据 2015 年版《中国药典》通则 2302(灰分测定法)和通则 2201 项下的热浸法对九香虫炮制品的总灰分、醇溶性浸出物进行测定, 见表 4。2015 年版《中国药典》对九香虫总灰分和醇溶性浸出物的限量分别为不得超过 6.0% 和不得少于 10%, 按 10 批样品总灰分(或醇溶性浸出物)的平均值上浮(或下浮)20% 计算, 因此建议炒九香虫的总灰分定为不得过 5.2%, 醇溶性浸出物定为不得少于 16.8%。

### 3 讨论

目前, 关于九香虫的炒制工艺, 还处于眼观、鼻嗅的水平, 这些方法是通过经验对炮制程度的把握, 其评判标准的主观性强, 缺乏量化指标, 受药物自身性质、外界条件的影响大, 故本实验就炒九香虫的炮制工艺以及质量标准进行研究。

多巴胺二聚体是九香虫体内的活性物质之一, 具有引起胶原蛋白和  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白表达增加

表 4 不同批次炒九香虫总灰分和醇溶性浸出物的测定

Table 4 Determination of total ash and alcohol soluble extract of different batches of Stir-baked *Aspongopus*

产地	批号	总灰分	醇溶性浸出物
贵州	15071	4.61	21.92
贵州	169801	3.85	20.12
贵州	150701	5.14	17.43
贵州	160101	4.18	21.58
四川	160709071	3.83	22.20
四川	160600341	4.77	23.98
贵州	140102	3.02	27.11
四川	150903	3.51	17.81
福建	1610001	5.56	20.27
河南	1603003	4.48	17.41

的作用, 有益于伤口恢复皮肤<sup>[8]</sup>。九香虫具有止痛的药效作用, 在临床上得到了广泛的应用<sup>[9-10]</sup>, 其水煎液腹腔注射后镇痛作用明显<sup>[11]</sup>, 此外, 九香虫醇提物亦具有良好的药理作用<sup>[12]</sup>, 故本文采用正交试验, 以镇痛率、多巴胺二聚体含量和醇溶性浸出物得率为指标, 多指标全面客观地优化炒九香虫的炮制工艺, 优化后的工艺为炒制温度 170 ℃, 炒制时间 5 min, 炒药机转速 50  $r \cdot \min^{-1}$ 。结果表明炮制温度对炒九香虫的影响最大, 炒制时间和炒药机转速次之; 用优化后的工艺对 10 个不同批次的九香虫进行炮制并对其总灰分及醇溶性浸出物测定。2015 年版《中国药典》对九香虫的炒制温度并未明确规定, 而是以文火为依据, 在实际操作中, 文火难以控制, 从而影响了药效成分的含量, 此外, 对炒九香虫的总灰分及醇溶性浸出物未作限量规定, 因此, 难以保证该炮制品质量以及临床疗效的稳定性。本文运用正交试验优选的炮制工艺可行性良好, 对总灰分及醇溶性浸出物的建议合理, 可为炒九香虫的规范

化、产业化生产提供参考,同时为炒九香虫的后续 HPLC 指纹图谱研究提供理论依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:11.  
[2] 吴玛莉,金道超. 九香虫血淋巴及其纯化蛋白抑菌活性的研究[J]. 昆虫知识,2005,42(3):315-318.  
[3] 叶定江,原思通. 中药炮制学辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:494.  
[4] 龚千峰. 中药炮制学[M]. 北京:中国中医药出版社,2012:131.  
[5] 吴鸿扬. 中药清炒法探索[J]. 海峡药学,2006,18(4):141-142.  
[6] 易忠盛. 浅谈国药手工清炒[J]. 时珍国医国药,1991,2(2):69-70.  
[7] 王敏,杜守颖,田志浩,等. 药效学结合正交试验优选

参连颗粒的水提工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(8):27-31.

[8] YAN Y M, AI J, SHI Y N, et al. (±)-Aspongamide A, an *N*-acetyldopamine trimer isolated from the insect *Aspongopus chinensis*, is an inhibitor of p-Smad3[J]. *Org Lett*, 2014, 16(2):532-535.  
[9] 康亚国. 虫类药物应用发微[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(8):1008-1009.  
[10] 罗昞,贺又舜. 论咸味药在脾胃病的应用[J]. 四川中医, 2010, 28(2):50-52.  
[11] 高源. 九香虫品质评价及药效学初步研究[D]. 南京:南京中医药大学,2010.  
[12] 任启俊,刘宝康,戚一曼,等. 九香虫醇提物对大鼠运动能力及骨骼肌抗氧化酶系的影响[J]. 西北农业学报,2013,22(12):170-173.

[责任编辑 刘德文]

## 《中国实验方剂学杂志》简介

《中国实验方剂学杂志》主编为吴以岭院士,由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中华中医药学会共同主办。以报道、介绍中医药研究为主旨的专业性学术期刊,创刊于1995年10月,目前为半月刊。

随着中医药政策扶持力度的加大和中医药科技创新的振兴,在中医药事业蓬勃发展的进程中,《中国实验方剂学杂志》也进入快速发展阶段! 以下是本刊在各权威数据库中的最新评价数据及收录情况:

- ①中国知网《中国学术期刊影响年报》(2016年版):影响力指数(CI)学科排序3/122(中医药类122本期刊中排第3名);复合影响因子1.319,学科排序9/122;
- ②万方数据《中国科技期刊引证报告(扩刊版)》: H 指标为16,总被引频次15 664,复合影响因子1.620,在中医药类122本期刊中排序分别为第2,2,11名;
- ③入选“中国科学引文数据库来源期刊”(CSCD 2015—2016);
- ④入选最新版《北大中文核心期刊要目总览》(2014年版);
- ⑤入选“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊2016年版);
- ⑥被评为“RCCSE 中国权威学术期刊(A+)”(《中国学术期刊评价研究报告(武大版)(2017—2018)》)。