

## 六味地黄汤的化学研究(Ⅱ)

中国药科大学中药学院中药理论研究室(南京 210038) 朱丹妮 严永清 余丽红 蒋莹

**提要** 本文通过对组成六味地黄汤的各单味药、各种不同配伍及全方水煎剂的 pH 值、水溶性浸出物、醇溶性浸出物的测定,对六味地黄汤的组方原理从化学方面进行了初步探讨,运用薄层层析、薄层扫描观察全方、三补及各单味药之间化学成份的变化;用紫外分光光度法测定六味地黄汤及丹皮煎剂中丹皮酚的含量,认为丹皮酚不一定是六味地黄汤中发挥疗效的主要成分。

**关键词** 六味地黄汤 复方化学 薄层层析 组方原理

六味地黄汤作为一个著名的补阴方,是以复方的形式作为一个整体起疗效作用的<sup>[1]</sup>。为了探索六味地黄汤作用的物质基础,本实验以六味地黄汤煎剂作为一个整体,把六味地黄汤水煎剂按极性大小分为四个部位,运用薄层层析薄层扫描进行分析比较。进一步对不同制备方法的六味地黄汤及丹皮煎剂中丹皮酚含量进行测定,观察不同方法制得的汤液其丹皮酚含量的差异。实验测定了六味地黄汤的各单味药,各种不同配伍(三补、三泻、地黄与泽泻、山茱萸与丹皮、山药与茯苓)及全方水煎剂的 pH 值、水溶性总浸出物,醇溶性浸出物含量,从化学方面对六味地黄汤的组方原理进行初步探讨。

### 实验材料

实验所用药材均经本校生药教研室鉴定,处方符合中华人民共和国药典一部(1985年版)的规定,所用试剂均为分析纯。

### 实验方法和结果

#### 一、pH 值、水溶性浸出物、醇溶性浸出物测定

按处方量,分别称取六味地黄汤的各种

配伍药材,准确加入250 ml 水(按全方量的10倍),称定总重量后,冷浸2 h,然后加热至沸,保持微沸40 min,冷却,复称重量,补足水份,过滤。即制得各种样品液。

1. 药液的 pH 值测定 取样品液各50 ml,用 pHS-3C 型酸度计,经校正后,测得各样品液的 pH 值,结果见表1。

结果表明,除熟地、山茱萸水煎液为酸性外,其余均为偏碱性,但各种配伍的水煎液,却仅有山药与茯苓组为碱性,全方、“三补”及配伍的山茱萸与丹皮组,熟地与泽泻组均为酸性,全方水煎剂 pH 值为4.4,偏酸性,说明其成份主要为熟地、山茱萸。

2. 水溶性浸出物的测定<sup>[1]</sup> 精密吸取各样品液20 ml,置已恒重的蒸发皿中,在水浴上蒸发至干,移入105±2℃干燥箱中干燥至恒重,按下列公式计算浸出率:

$$\text{浸出率}\% = \frac{(\text{总重量} - \text{蒸发皿重量}) \times 12.5}{\text{生药重量}} \times 100\%$$

结果表明(见表1),单味药熟地与山茱萸的水溶性浸出物最多,共8.038 g(熟地6.101 g,山茱萸1.939 g)占单味药水溶性浸出物总量的75.66%(其中熟地占57.42%,山茱萸

表1 各煎剂的pH、水溶物、醇溶物含量比较

样品名	样品量	水煎剂 PH	水溶物 (g)	溶出率 (%)	醇溶物 (g)	溶出率 (%)
熟地黄	8	4.64	6.101	76.262	5.189	64.859
山茱萸	4	4.34	1.937	48.425	1.404	35.109
山药	4	8.68	0.935	23.375	0.269	6.726
茯苓	3	8.91	0.157	5.23	0.12	4
泽泻	3	8.54	0.789	26.3	0.658	21.948
丹皮	3	7.20	0.743	24.767	0.726	24.208
合计	25		10.662		8.366	
全方	25	4.40	8.444	33.786	6.34	25.396
三补(地黄、山茱萸、山药)	16	4.17	7.165	44.781	5.394	33.715
三泻(泽泻、茯苓、丹皮)	9	6.68	1.577	17.521	1.153	12.809
山茱萸+丹皮	7	4.43	2.337	33.385	2.054	29.344
山药+茯苓	7	8.23	0.924	13.205	0.591	8.437
熟地+泽泻	11	5.12	6.179	56.17	5.418	49.258

占18.24%)，而两味药材用量只占全方的48%，其他四个单味药的水溶性浸出物共2.587g，仅占单味药水溶性浸出物总重量的24.34%，而四药用量占全方的52%。这从浸出物量的方面反映了本方配伍组成的主药为熟地，其次是山茱萸，而其他药物可认为是辅药或佐使药。

“三补”和“三泻”相比，“三补”的水溶物浸出率比“三泻”高2.56倍，从这方面看本方可以补药为主，泻药为辅。全方及“三补”的浸出率比相应单味药的浸出率总和低8.72—11.3%，“三泻”浸出率比其单味药浸出率的总和仅低0.85%，而由一补一泻相配伍的水煎剂浸出率比相应单味药低1.89—6.47%，介于上述“三补”及“三泻”两者之间。这可能是因为药材用量不同而加水量相同，加水量直接影响了药材的溶出率。

3. 醇溶性浸出物的测定<sup>[2]</sup> 精密量取各样品液20ml，加95%乙醇56ml，使含醇量达70%，放置冰箱过夜，抽滤，得滤液70ml，精密量取醇溶液20ml，置已恒重的蒸发皿中，水浴蒸干后移入105±2℃干燥箱中干燥至恒重，计算醇溶物浸出率(见

表)。

$$\text{浸出率}\% = \frac{(\text{总重量} - \text{蒸发皿重量}) \times 43.75}{\text{生药重量}} \times 100\%$$

以上测定结果同样可以看出，全方、“三补”、“三泻”及药对配伍的各组药物，醇溶性浸出物均比其各相应组成的单味药醇溶物总量少；熟地、山茱萸醇溶物共6.593g，占单味药醇溶物总量的78.46%，而其他四药只占21.53%，醇溶性浸出物组成的测定同样可认为本方的主药为熟地、山茱萸，其他药物为辅药或佐使药。

## 二、六味地黄汤薄层层析及薄层扫描

样品制备 生药按处方量加5倍量水，冷浸2h，加热煮沸，保持微沸40min，四层纱布过滤，药渣加3倍量水煎煮，微沸30min，过滤，药渣再加3倍量水煎煮，微沸20min，过滤，三次滤液合并，离心15min(3500转/分)，上清液用旋转蒸发器在50℃以下减压浓缩到适量，浓缩液加等量95%乙醇，除去树脂类粘液质，静置过夜，过滤，滤液蒸除乙醇，制成1g生药/ml溶液备

用，以上溶液依次用乙醚、乙酸乙酯，水饱和和正丁醇萃取<sup>[3]</sup>，各部位分别回收溶剂制得乙醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位及水溶部位。

**薄层层析条件** 取硅胶 GF<sub>254</sub> 32 g，加入 0.5% CMC-Na 90 ml，制板 20×20 cm 四板，按处方比例点样，展开剂：乙醚部位：氯仿：丙酮(2:1)；乙酸乙酯部位：氯仿：冰醋酸：水(20:20:15)；正丁醇部位：氯仿：甲醇：水(40:18:15)；展距 17 cm，在紫外灯下观察荧光。

1. 各部位薄层层析比较 经观察，乙醚和乙酸乙酯部位层析，各单味药的斑点在全方中基本能相应出现(图略)，水饱和和正丁醇的薄层层析(图 1)显示，“三补”的斑点比全方多，各单味药的斑点在全方中不能相对应。正丁醇部位又进行了薄层扫描(见图 2)，在扫描图上可以看出，全方中所含的化学成份不一定是各单味药化学成份的简单

和，全方在群煎过程中各成分之间可能发生了多种化学反应，如有的生成不溶性物质，有的被分解，有的发生复合反应生成新物质等。

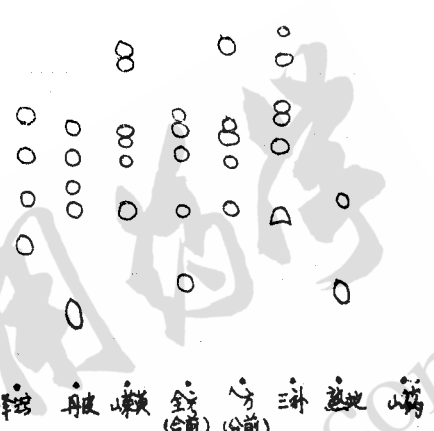


图 1 正丁醇部位 TLC

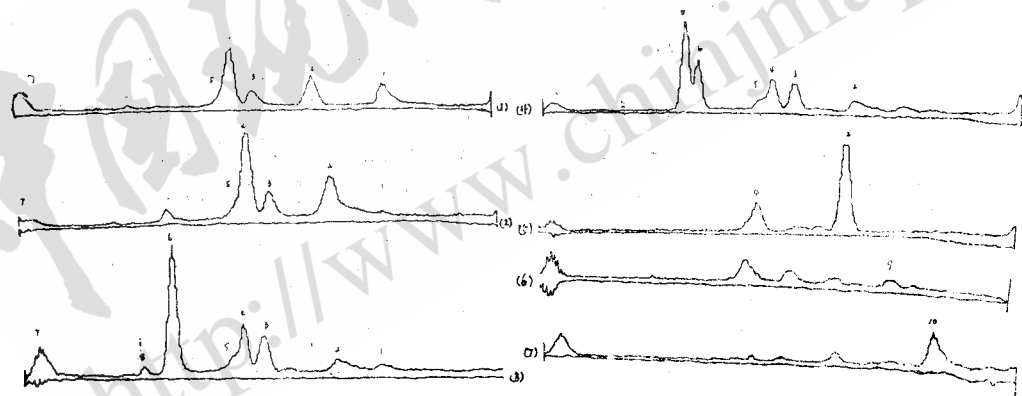


图 2 正丁醇部位 TLCS

(1) 合煎全方 (2) 分煎全方 (3) 三补 (4) 山茱萸 (5) 丹皮 (6) 泽泻 (7) 熟地

2. 两种全方汤液薄层层析比较

为了探索全方分煎混合液和全方群煎汤液化学成分的异同，对这二种不同方法制备的浓缩液进行了薄层层析及薄层扫描，定性地观察其化学成分(见图 3、4)。

结果显示，全方群煎液的化学成分似比

分煎混合液的多。薄层层析图上表现为合煎液较分煎混合液多(1)、(3)二个斑点；扫描图上显示多了峰(1)和峰(3)。在实验过程中，将各单味药水煎剂混合时，产生大量沉淀，说明各单味药煎出液中的物质相互间产生了化学反应。这些都提示由于制备过程不同，

各药单煎后的混合液与群煎液受热情况不同,各成分间发生化学反应的机率和程度均有所不同,因而导致了二种汤液化学成分的差异,其疗效也有可能不同。文献报道<sup>[4]</sup>,甘草汤和芍药汤二个方剂分别制好的汤液混在一起,它的作用不等于复方甘草芍药汤的作用。

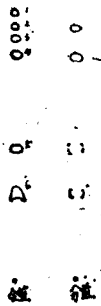


图3 全方分煎、合煎液TLC

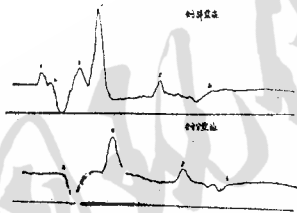


图4 全方汤液的薄层扫描图

把二种全方汤液按不同极性分成四个部位(方法同前),并对各部位进行薄层层析观察。乙醚和乙酸乙酯部位的薄层层析并无明显差异,正丁醇部位,全方分煎混合液与全方群煎液相比则明显不同(图1),分煎混合液比群煎液少1号斑点,多6号斑点;图2的扫描图上也显示,分煎混合液的6号峰在群煎液中没出现,而群煎液的1号峰在分煎混合液中表现不明显。同时在薄层层析观察荧光时发现群煎液的斑点对紫外光的吸收要比分煎混合液强。

### 三、丹皮酚含量的测定

在以上三个部位的薄层层析中,用样

醇、丹皮酚、熊果酸、薯蓣皂甙元四种标准品进行对照检测比较,结果熟地及全方的正丁醇部位仅检出微量梓醇,而丹皮酚,熊果酸及薯蓣皂甙元都在乙醚部位被检出,但量很少。本实验对不同煎煮条件的丹皮及六味地黄汤中丹皮酚进行定性观察,同时进行含量测定,结果表明,在层析图上,丹皮煎煮液及六味地黄汤全方煎煮液仅显示出很微弱的丹皮酚斑点,如将全方煎煮液敞口浓缩,则绝大部分丹皮酚都随水蒸气挥发损失,在全方浓缩液中几乎检测不出丹皮酚的存在。如将全方煎煮液减压浓缩,则浓缩液中丹皮酚含量很低,而母液中却能检出丹皮酚的存在。这表明了丹皮酚在煎煮过程中损失很多。经用紫外分光光度法测定,原丹皮中含丹皮酚1.2985%,丹皮煎煮液中的丹皮酚含量仅为0.2141%,全方煎剂经浓缩后丹皮酚含量只剩0.1076%,只有原丹皮中丹皮酚含量的8.28%。根据上述实验结果,认为丹皮酚可能不是六味地黄汤汤剂中发挥疗效的主要成份,因此不宜把测定丹皮酚的含量作为六味地黄汤这类制剂的主要质量指标,当然以粉末制成的六味地黄丸则另当别论。

本研究室在化学研究基础上选用某些药理指标,对不同溶媒分离的部位进行筛选,结果显示,乙醚部位触明显延长小鼠耐缺氧死亡时间( $P < 0.05$ ),对血糖影响的实验正在进行,尚未得出结论。

除以上三部位外的水溶性部位,其他化学成份及药理活性的研究工作正在进行。

### 参 考 文 献

- [1] 陈传楚、岳凤先: 中药的现代研究,北京: 中医古籍出版社, 1988. 77—90
- [2] 周荣耀、邵忠法: 中成药研究1987, (1): 1—2
- [3] 丘晨波: 中草药1981, 12(10): 42—48
- [4] 严永清: 南京药学院学报1984, 1(3): 61